

**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Doença de Alzheimer: o que há de novo?**

**Cristiana Cardoso Dias**

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2017**



**Universidade de Lisboa  
Faculdade de Farmácia**



# **Doença de Alzheimer: o que há de novo?**

**Cristiana Cardoso Dias**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador: Doutora Ana Paula Francisco, Professora Auxiliar,  
Departamento de Química Farmacêutica e Terapêutica**

**2017**



# Resumo

A Doença de Alzheimer (DA) é a principal causa de demência no mundo. A doença manifesta-se, principalmente, a partir dos 65 anos de idade, através de sintomas como perda da memória, afasia, apraxia, agnosia, alterações da personalidade, depressão, alucinações. Hipóteses quanto à origem e mecanismos fisiopatológicos da doença incluem alterações cerebrais como a acumulação de agregados insolúveis de proteína  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ A) e de proteína tau hiperfosforilada, neuroinflamação, disfunção mitocondrial, stress oxidativo, e disfunções ao nível dos sistemas de neurotransmissores. Neste trabalho é apresentada uma compilação dos desenvolvimentos recentes na área da terapêutica direcionada à DA, nomeadamente moléculas desenvolvidas para atuar nos diferentes processos patológicos envolvidos na doença, assim como potenciais novos alvos para futuras intervenções.

As terapêuticas mais relevantes para cada um dos tópicos enumerados são exploradas no trabalho. A maioria das moléculas estudadas atua ao nível da  $\beta$ A e da tau, nomeadamente, na diminuição da produção, diminuição da agregação e aumento da eliminação destas. Outros possíveis alvos terapêuticos são a neuroinflamação, o stress oxidativo, as vias de sinalização da insulina, o metabolismo do colesterol. Moléculas que atuam nos sistemas de neurotransmissão estão a ser estudadas maioritariamente como terapêutica sintomática, não alterando a progressão da doença.

As terapêuticas atuais têm-se revelado limitadas em relação à eficácia e tolerabilidade. A incerteza em relação à fisiopatologia da doença dificulta a descoberta de um tratamento eficaz e possivelmente curativo. Apesar disso, inúmeros ensaios clínicos decorrem com esse propósito. Contudo muitas destas moléculas acabam por falhar em estadios avançados dos ensaios clínicos. Estudos recentes sugerem que o futuro da terapêutica da DA passará por moléculas que atuam em mais do que uma via, e por novos alvos terapêuticos, alguns dos quais também já apresentados no presente trabalho.

**Palavras-chave:** Alzheimer; Terapêutica; Alvos;  $\beta$ -amiloide; Tau

# Abstract

Alzheimer's Disease is the main cause of dementia worldwide. The disease manifests itself mainly at the age of 65 through symptoms as memory loss, aphasia, apraxia, agnosia, personality changes, depression, hallucinations. Hypothesis concerning the cause and the pathophysiological mechanisms of the disease include brain accumulation of insoluble aggregates of amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) and hyperphosphorylated tau proteins, neuroinflammation, mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neurotransmission systems alterations.

Current therapeutics are limited in terms of efficacy and tolerability. The uncertainty associated with the disease's pathophysiology hinders the discovery of an effective treatment and possibly a curative one. Nevertheless, many clinical trials are ongoing with that purpose. Most of the studied molecules act at  $A\beta$  and tau proteins, specifically in its production and aggregation decrease and elimination enhancement. Other potential targets include neuroinflammation, oxidative stress, insulin signaling pathways, cholesterol metabolism. Molecules that act through changes in the neurotransmission systems are mainly being studied as symptomatic therapeutics, and are not able to change the progression of the disease. The most relevant therapies for each of the topics listed above are explored in this monography.

Considering the failure of a significant number of these molecules in late stages of the clinical trials, recent studies suggest the usage of new molecules that could act in more than one pathway and new targets should be explored. Some of these targets are also discussed in the present work.

**Keywords:** Alzheimer; Therapeutics; Targets; Amyloid- $\beta$ ; Tau

# Abreviaturas

- 5-HTR – Recetor serotoninérgico
- Ac – Anticorpo
- ADAM – Desintegrina e metaloprotease A (*A disintegrin and metalloprotease*)
- Ag – Antígeno
- AINE – Anti-inflamatório não esteróide
- AMPA – Recetor do ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
- ApoE – Apoliproteína E
- APP – Proteína percussora amiloide (*Amyloid precursor protein*)
- AR – Recetor adrenérgico (*Adrenergic receptor*)
- ARIA – Anomalias imagiológicas relacionadas com a amiloide (*Amyloid-related imaging abnormalities*)
- ARIA-E – Anomalia imagiológica relacionada com a amiloide sugestiva de edema vasogénico e efusão sulcral
- ARIA-H – Anomalia imagiológica relacionada com a amiloide sugestiva de micro-hemorragia e hemossiderose
- $\beta$ A – Beta-amiloide
- BACE-1 – Enzima de clivagem da proteína precursora amiloide no local  $\beta$  1 ( *$\beta$ -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1*)
- BDNF – Fator de crescimento derivado do cérebro (*Brain-derived neurotrophic factor*)
- BHE – Barreira hemato-encefálica
- CDK5 – Quinase dependente de ciclina 5 (*Cyclin-dependent kinase 5*)
- CDR – Região de determinação de complementariedade (*Complementarity-determining region*)
- COX - ciclooxigenase
- DA – Doença de Alzheimer
- DAMPs – Padrões moleculares associados ao dano (*Damage associated molecular patterns*)
- DCL – Declínio cognitivo ligeiro
- DP – Doença de Parkinson
- DR – Recetor dopaminérgico (*Dopamine receptor*)
- ECA – Enzima de conversão da angiotensina
- EOAD – Doença de Alzheimer de início precoce (*Early onset Alzheimer's Disease*)
- GABA - Ácido gama-aminobutírico (*Gamma-aminobutyric acid*)
- GABAR – Recetor GABA

GSK-3 $\beta$  – Glicogénio sintase quinase 3 $\beta$

IACHe – Inibidor da acetilcolinesterase

IDE – Enzima de degradação de insulina (*Insulin-degrading enzyme*)

Ig – Imunoglobulina

IGF-1 – Fator de crescimento semelhante à insulina 1 (*Insulin-like growth factor 1*)

IVIG – Imunoglobulinas intravenosas (*Intravenous immunoglobulin*)

LOAD – Doença de Alzheimer de início tardio (*Late onset Alzheimer's Disease*)

LRP-1 – Recetor da lipoproteína de baixa densidade 1 (*Low density lipoprotein receptor-related protein 1*)

mAc – Anticorpo monoclonal

mAChR - Recetor colinérgico muscarínico (*Muscarinic acetylcholine receptor*)

MAO-B – Monoaminoxidase B

nAChR – Recetor colinérgico nicotínico (*Nicotinic acetylcholine receptor*)

NF- $\kappa$ B – Fator nuclear  $\kappa$ B (*Nuclear factor  $\kappa$ B*)

NMDAR – Recetor do N-metil-D-aspartato

p38 MAPK  $\alpha$  – Proteína quinase  $\alpha$  ativada pelo mitógeno p38 (*p38 mitogen activated protein kinase alpha*)

PAMPS – Padrões moleculares associados a patógenos (*Pathogen associated molecular patterns*)

PDE – Fosfodiesterase (*Phosphodiesterase*)

PPAR  $\gamma$  – Recetor ativado pelo proliferador de peroxissoma  $\gamma$  (*Peroxisome proliferator-activated receptor*)

RAGE – Recetor dos produtos finais da glicação avançada (*Receptor for advanced glycation endproducts*)

ROS – Espécies reativas de oxigénio (*Reactive oxygen species*)

sAPP $\alpha$  - Domínio extracelular APP $\alpha$  solúvel

SNC – Sistema nervoso central

Th2 – Linfócitos T *helper* 2

TLR – Recetor do tipo *Toll* (*Toll-like receptors*)

TNF $\alpha$  – Fator de necrose tumoral  $\alpha$  (*Tumor necrosis factor  $\alpha$* )



# Índice Geral

Introdução.....	11
Objetivo .....	11
Materiais e Métodos .....	12
Estado da Arte.....	13
1. Doença de Alzheimer .....	13
1.1 Epidemiologia e custos .....	13
1.2 Fisiopatologia .....	13
1.2.1. $\beta$ -amilóide .....	14
1.2.2 Proteína $\tau$ (tau) .....	15
1.2.5 Neuroinflamação.....	16
1.2.6 Disfunção mitocondrial e stress oxidativo .....	16
1.2.3 Sistema colinérgico.....	17
1.2.4 Sistema glutamatérgico .....	17
1.3 Terapêutica atual.....	20
2. Novas terapêuticas na Doença de Alzheimer .....	21
2.1 A $\beta$ -amiloide como alvo terapêutico.....	21
2.1.1 Aumento da eliminação: Imunoterapia anti- $\beta$ -amiloide.....	21
2.1.2 Diminuição da produção de $\beta$ -amiloide .....	25
2.1.2.1 Inibidores e moduladores da $\gamma$ -secretase .....	25
2.1.2.2 Inibidores e moduladores da $\beta$ -secretase.....	26
2.1.2.2 Outros .....	30
2.1.3 Diminuição da agregação de $\beta$ -amiloide .....	31
2.2 A proteína tau como alvo terapêutico .....	33
2.2.1 Aumento da eliminação: Imunoterapia antitau .....	33
2.2.2 Modulação da hiperfosforilação da tau.....	33
2.2.3 Inibição da agregação e/ou estimulação da desagregação.....	34
2.2.4 Estabilização dos microtúbulos .....	35
2.3 Neuroinflamação como alvo terapêutico .....	36
2.4 Stress oxidativo como alvo terapêutico.....	43
2.5 Vias de sinalização da insulina como alvo terapêutico.....	46
2.6 Metabolismo do colesterol como alvo terapêutico.....	48
2.7 Neurotransmissores como alvo terapêutico .....	51
2.7.1 Sistema colinérgico.....	51
2.7.2 Sistema glutamatérgico .....	53
2.7.3 Sistemas monoaminérgicos .....	57
2.7.3.1 Sistema adrenérgico.....	57

2.7.3.2 Sistema serotoninérgico .....	59
2.7.3.3 Sistema dopaminérgico .....	61
2.7.3.4 Sistema histaminérgico .....	63
2.7.4 Sistema GABAérgico .....	64
2.8 Outros .....	66
3. Novos Alvos Terapêuticos na Doença de Alzheimer .....	70
3.1 Modulação do processamento da APP .....	70
3.2 Aumento da eliminação de $\beta$ -amiloide e da tau .....	71
3.3 Inibição da hiperfosforilação da tau .....	74
Discussão .....	75
Conclusão.....	79
Referências Bibliográficas .....	80
Anexos .....	102
A1. Enzimas envolvidas na via amiloidogénica do processamento da APP: $\beta$ -secretase e $\gamma$ -secretase.....	102
A2. Estádios da agregação da $\beta$ A e da tau hiperfosforilada.....	104
A3. Interações do bapineuzumab com a $\beta$ A .....	105
A4. Interações do solanezumab com a $\beta$ A .....	106
A5. Interações do crenezumab com a $\beta$ A.....	107
A6. Interações do gantenerumab com a $\beta$ A.....	108
A7. Racional do desenvolvimento do ladostigil .....	110

# Índice de Figuras

Figura 1.1 – Representação esquemática de genes possivelmente ligados à DA .....	14
Figura 1.2 – Processamento da APP.....	15
Figura 1.3 – Esquema da influência dos $\alpha_7$ nAChRs no processo de desregulação do sistema glutamatérgico.....	18
Figura 1.4 – Esquema da origem hipotética da neurodegeneração provocada pelo processo de excitotoxicidade.....	19
Figura 1.5 – Estrutura dos fármacos aprovados atualmente para o tratamento sintomático da DA.....	20
Figura 2.1 – Esquema da interação do verubecestat com a $\beta$ -secretase.....	27
Figura 2.2 – Estrutura da minociclina .....	37
Figura 2.3 – Estruturas de ressonância do resveratrol que lhe conferem capacidade de neutralização de radicais.....	37
Figura 2.4 – Estrutura do EGCG .....	38
Figura 2.5 – Esquema das interações entre o neflamapimod e a p38 MAPK $\alpha$ .....	39
Figura 3.1 – Regulação da HSP90 por inibidores e cochaperonas.....	72
Figura 3.2 – Possíveis vias de atuação dos inibidores da HSP90 .....	73

# Índice de Tabelas

Tabela 2.1 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação de $\beta$ -amiloide através da imunização ativa.....	21
Tabela 2.2 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação de $\beta$ -amiloide através da imunização passiva, de acordo com a região em que atuam.....	22
Tabela 2.3 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de $\beta$ -amiloide através da modulação e bloqueio da $\gamma$ -secretase .....	25
Tabela 2.4 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de $\beta$ -amiloide através da modulação e bloqueio da $\beta$ -secretase .....	28
Tabela 2.5 – Outras moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de $\beta$ A .....	30
Tabela 2.6 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da agregação da $\beta$ -amiloide .....	32
Tabela 2.7 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação da tau .....	33
Tabela 2.8 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da fosforilação da tau .....	34
Tabela 2.9 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da agregação da tau .....	35
Tabela 2.10 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da estabilização dos microtúbulos .....	35
Tabela 2.11 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da neuroinflamação.....	39
Tabela 2.12 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do stress oxidativo .....	44
Tabela 2.13 - Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível das vias da insulina.....	47
Tabela 2.14 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível das vias do colesterol.....	49
Tabela 2.15 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema colinérgico.....	51
Tabela 2.16 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema glutamatérgico.....	55
Tabela 2.17 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema adrenérgico .....	57
Tabela 2.18 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema serotoninérgico.....	59
Tabela 2.19 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema dopaminérgico.....	62
Tabela 2.20 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema histaminérgico .....	63
Tabela 2.21 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema GABAérgico .....	65
Tabela 2.22 – Outras moléculas desenvolvidas para atuar na DA.....	66
Tabela 3.1 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da $\alpha$ -secretase .....	70

# Introdução

A DA é uma doença neurodegenerativa que, apesar de descrita pela primeira vez há 110 anos atrás, ainda não se encontra bem definida quanto à sua natureza e mecanismos patológicos. Sabe-se que, em zonas específicas do cérebro dos indivíduos afetados, há um acúmulo de placas amiloides extracelulares e novos neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada intracelulares. Outras manifestações podem ser neuroinflamação, stress oxidativo, e desregulação mitocondrial e dos sistemas de neurotransmissores. Mas qual a causa da doença? Há um mecanismo a desencadear todos os outros? Não se sabe. Esta incerteza reflete-se na terapêutica que, até ao momento, é escassa e apenas sintomática. Os esforços no desenvolvimento de novos fármacos não têm tido os resultados esperados, com muitas moléculas a falhar e a ficar pelo caminho.

## Objetivo

O principal objetivo deste trabalho de revisão é compilar os desenvolvimentos recentes realizados na área da terapêutica direcionada à DA, nomeadamente moléculas desenvolvidas para atuar nos diferentes processos patológicos envolvidos na doença, e ainda abordar potenciais novos alvos para futuras intervenções.

## Materiais e Métodos

Foram realizadas pesquisas bibliográficas, entre fevereiro e julho de 2017, através do PubMed e do Google Scholar, para identificar artigos relacionados com “*Alzheimer review*”, “*Alzheimer new target*”, com cada um dos tópicos mencionados no subcapítulo “1.2 Fisiopatologia” e ainda com cada nova terapêutica mencionada. A pesquisa inicial incidiu sobre artigos publicados a partir de 1 de janeiro de 2015. Algumas referências mais antigas referidas nessas publicações também foram consultadas. Para tópicos pontuais como os abordados em “3.2 Aumento da eliminação de  $\beta$ -amiloide e da tau”, em que a informação nos anos mais recentes foi considerada insuficiente, a data de pesquisa foi alargada. Para as novas terapêuticas todos os resultados foram considerados, independentemente da data. A lista das novas terapêuticas foi fundamentada na base de dados “Therapeutics” do site alzforum.org, com adição de algumas moléculas presentes na bibliografia consultada. Apenas as moléculas com ensaios na DA registados nas plataformas clinicaltrials.com e/ou Clinical Trials Search Portal ([apps.who.int/trialsearch/](https://apps.who.int/trialsearch/)) são referidas no trabalho. Uma pesquisa referente a estas foi também realizada em alzheimersanddementia.com. Toda a pesquisa foi realizada em inglês. Apenas artigos com acesso livre ou permitido através da plataforma b-on foram consultados. Da bibliografia obtida, os artigos mais relevantes são citados e encontram-se nas referências bibliográficas. Foi obtida permissão para a utilização de todas as imagens apresentadas. As estruturas moleculares foram obtidas no PubChem e manipuladas no PubChem Sketcher V2.4. As datas referidas nas tabelas, para moléculas investigadas em outras patologias para além da DA, são as do primeiro ensaio na DA.

# Estado da Arte

## 1. Doença de Alzheimer

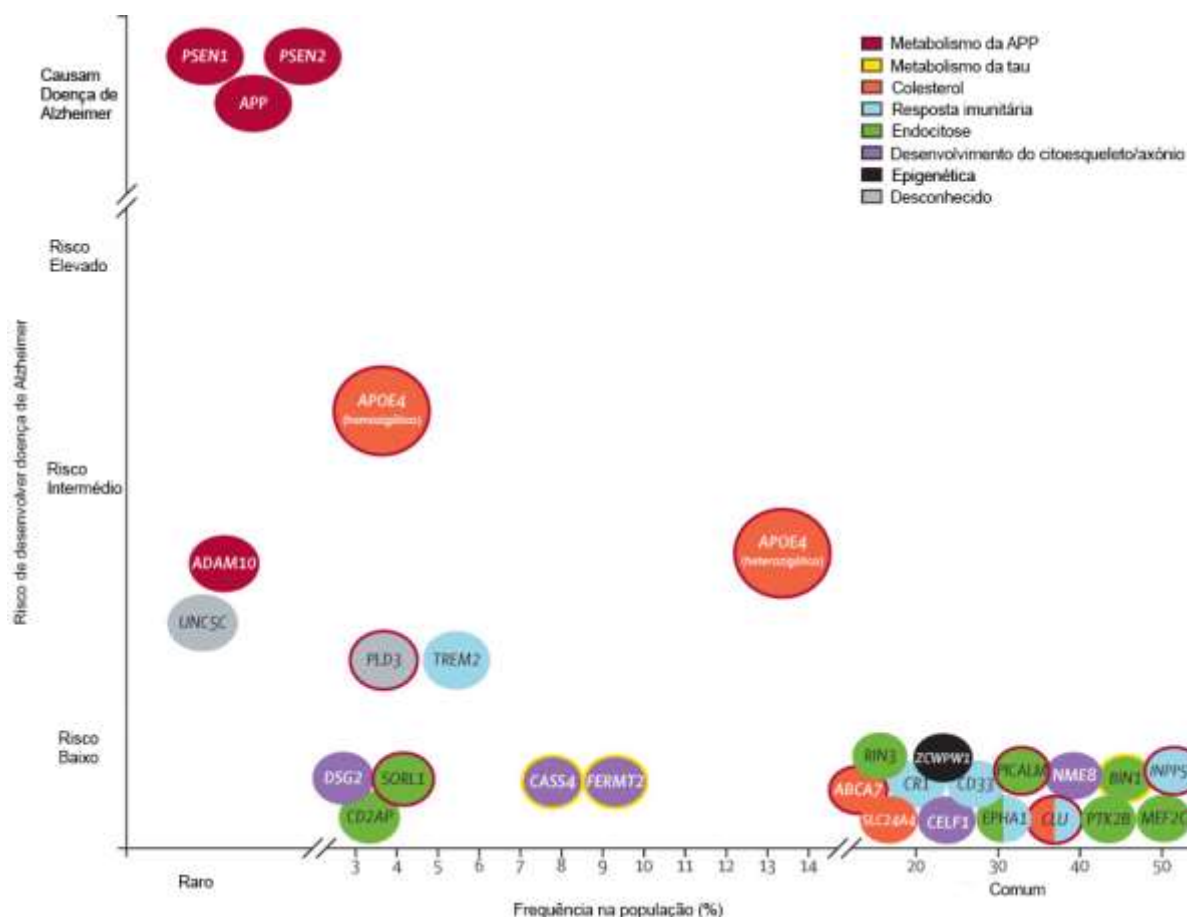
### 1.1 Epidemiologia e custos

A nível mundial, cerca de 46,8 milhões de pessoas vivem com demência. Estima-se que este valor chegue aos 74,7 milhões até 2030, e aos 131,5 milhões até 2050. (1) A quantidade de pessoas afetadas e os cuidados que as mesmas necessitam traduz-se num elevado impacto económico. Custos globais de cerca de 538 biliões de euros em 2010 aumentaram para 729 biliões de euros em 2015. (1,2) Pensa-se que este valor vai chegar aos 1,75 triliões de euros em 2030. (1)

A DA é a principal causa de demência, englobando cerca de 60 a 70 % dos casos. (3–5) A prevalência da doença é de aproximadamente 1% na faixa etária dos 60 aos 64 anos de idade, subindo para 40% no grupo com 85 ou mais anos. (4) Considera-se que sensivelmente 10% dos casos de DA apresentam início precoce, antes dos 65 anos. (5)

### 1.2 Fisiopatologia

Há que diferenciar DA de início precoce (EOAD) e de início tardio (LOAD). Famílias com EOAD autossómica dominante apresentam, em 5% dos casos, mutações nos genes que codificam a proteína percussora amiloide (APP), proteínas envolvidas no seu metabolismo, nomeadamente a presinilina 1 e 2, ou apresentam o alelo de risco  $\epsilon 4$  para a apoE. A etiologia dos restantes casos é desconhecida ou dúbia, podendo resultar de uma combinação de fatores genéticos (Figura 1.1) e ambientais (diabetes, hipertensão, dislipidemia). Para além da idade em que surge a doença e da herdabilidade (EOAD = 92 a 100% VS. LOAD = 70 a 80%), ambas as formas da doença apresentam um perfil semelhante. (5,6) Os sintomas cognitivos da doença incluem perda da memória, afasia, apraxia, agnosia e os psiquiátricos incluem alterações da personalidade, depressão, alucinações. (6,7)



**Figura 1.1 – Representação esquemática de genes possivelmente ligados à DA.** A cor do interior dos círculos representa a(s) via(s) nas quais os genes estão envolvidos. Aqueles que afetam o metabolismo da APP encontram-se circundados a vermelho e os que afetam a tau a amarelo. Adaptado de Scheltens et al, 2016. (8)

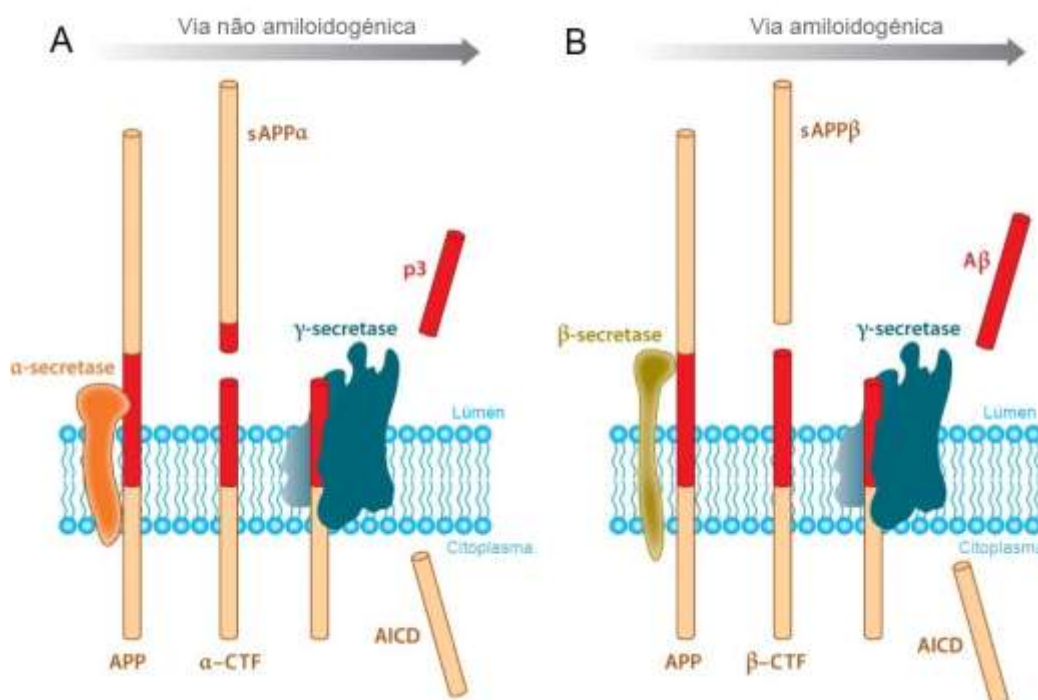
Existem várias hipóteses quanto aos mecanismos fisiopatológicos da doença idiopática. Admite-se que, apesar de a doença normalmente se manifestar em fases mais tardias da vida, há uma fase pré-clínica em que ocorrem alterações neuropatológicas que vão progredindo e que acabam por originar a doença. (4) Tratando-se de uma doença multifatorial, algumas das vias possivelmente envolvidas são discutidas de seguida.

### 1.2.1. $\beta$ -amilóide

Um dos sinais patológicos nos doentes com DA é a presença de uma quantidade elevada de  $\beta$ A no cérebro. Isto pode resultar de uma desregulação nos processos de produção e/ou clearance da proteína.

A APP pode ser processada por duas vias diferentes, consoante a endoprotease que a cliva: o processamento pela  $\alpha$ -secretase dá início à via não amiloidogénica enquanto que a  $\beta$ -secretase (ver anexo A1), também denominada de BACE-1, leva à via amiloidogénica, com produção de  $\beta$ A. (ver Figura 1.2).





**Figura 1.2 – Processamento da APP.** (A) Clivagem da APP mediada pela  $\alpha$ -secretase: há libertação do domínio extracelular APP $\alpha$  solúvel (sAPP $\alpha$ ) e o fragmento C-terminal ( $\alpha$ -CTF) permanece na membrana celular. A clivagem deste último pela  $\gamma$ -secretase (ver anexo A1) liberta o fragmento p3 para o espaço extracelular e o domínio intracelular (AICD) para o citoplasma. (B) Clivagem pela  $\beta$ -secretase: o local de clivagem é diferente dando origem a um domínio extracelular mais curto (sAPP $\beta$ ) e a um fragmento terminal mais comprido ( $\beta$ -CTF). A clivagem pela  $\gamma$ -secretase origina o AICD e a  $\beta$ A. Adaptado de Thinakaran et al, 2008 e de O'Brien et al, 2011. (9–11)

Os péptidos  $\beta$ A formados agregam originando oligómeros solúveis que, por sua vez, agregam em fibras insolúveis que, em última instância, formam placas amiloides (ver anexo A2). Os oligómeros, considerados a forma mais tóxica, podem ter vários comprimentos, consoante o local de clivagem da  $\gamma$ -secretase, com ênfase para os oligómeros A $\beta_{1-42}$ . A  $\beta$ A é tóxica para os neurónios e sinapses ao induzir stress oxidativo, hiperfosforilação da tau, e interferindo em muitas outras vias, algumas discutidas ao longo do trabalho. A perda de neurónios e sinapses desencadeia o aparecimento dos sintomas característicos da doença. (3)

### 1.2.2 Proteína $\tau$ (tau)

A tau é uma proteína neuronal que se encontra associada aos microtúbulos, participando na sua formação e estabilização, sendo particularmente importante nos axónios. Na DA, esta proteína encontra-se hiperfosforilada. Esta hiperfosforilação destabiliza os microtúbulos, por diminuição da afinidade da tau para os mesmos, e promove a agregação da proteína originando filamentos e novelos neurofibrilares (ver anexo A2). (12,13) A fosforilação

em resíduos específicos e necessários ao reconhecimento e degradação da tau pelo proteossoma pode também contribuir para este processo. Estes acontecimentos levam à perda da integridade do axónio, disfunção sináptica e, por fim, morte neuronal. A enzima mais relevante envolvida nesta modificação da proteína é a glicogénio sintase quinase 3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ). (13)

### 1.2.5 Neuroinflamação

A  $\beta$ A e tau hiperfosforilada desencadeiam processos pró-inflamatórios no cérebro (14,15). O mesmo acontece com o dano neuronal provocado por estas proteínas. A resposta inflamatória a estes acontecimentos baseia-se na ativação da microglia, de astrócitos e do complemento, no recrutamento de neutrófilos para o cérebro, e na libertação de citocinas inflamatórias. (16) A ativação contínua do sistema imunitário por constante neurodegeneração leva a um ciclo onde estes processos, em vez de combater a inflamação, contribuem para a mesma e para o dano neuronal. (15,16)

Um achado importante na DA é que a microglia pode apresentar ou fenótipos benéficos em que a célula contribui para a clearance da  $\beta$ A, ou fenótipos em que há sobre-expressão de genes envolvidos nos processos inflamatórios e em que, entre outros mecanismos, há redução dos níveis de recetores que participam na fagocitose da  $\beta$ A e de enzimas de degradação da mesma. (15,17)

### 1.2.6 Disfunção mitocondrial e stress oxidativo

A disfunção mitocondrial na DA inclui alterações na estrutura do organelo, enfraquecimento dos processos bioenergéticos por diminuição da atividade da citocromo oxidase, da  $\alpha$ -cetodesidrogenase, e da piruvato desidrogenase, diminuição da produção de ATP, aumento da produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), desregulação dos níveis de cálcio, despolarização da membrana mitocondrial, e aumento de fenómenos apoptóticos. (18–20) Isto ocorre por interação da  $\beta$ A com várias proteínas mitocondriais e da APP com canais que transportam proteínas para este organelo. (21)

O stress oxidativo é evidenciado na DA pela ocorrência de peroxidação lipídica, oxidação proteica e do DNA, acumulação de metais de transição como o ferro, cobre, e zinco, e diminuição das defesas antioxidantes. (21–23) Mais concretamente, alguns dos mecanismos patológicos que ocorrem são: a promoção da expressão da APP e da  $\beta$ -secretase por ligação de ROS a fatores de transcrição específicos (21); a diminuição da clearance da  $\beta$ A através da ativação do recetor dos produtos finais da glicação avançada (RAGE), que regula a entrada desta no cérebro a partir da circulação sanguínea, e da modulação do recetor da lipoproteína de baixa densidade 1 (LRP-1), que promove o efluxo

(21,24); promoção da oligomerização e agregação  $\beta$ A, por interação com metais de transição, e da sua toxicidade, por produção de ROS aquando da redução dos metais por esta (25,26); aumento da fosforilação da tau por aumento da ativação das enzimas envolvidas no processo e por diminuição dos níveis de desfosforilases (21).

O stress oxidativo está intimamente relacionado com a neuroinflamação uma vez que a promove e é também um resultado desta.

### 1.2.3 Sistema colinérgico

Na DA há diminuição da expressão de recetores colinérgicos e da atividade da colina acetiltransferase (envolvida na produção do neurotransmissor) em áreas do cérebro importantes para a aprendizagem e plasticidade. (27,28)

Os recetores nicotínicos (nAChRs) que contêm a subunidade  $\alpha_7$  ou  $\beta_2$  são os mais abundantes no cérebro. (27,29,30) A  $\beta$ A inativa os  $\alpha_7$  nAChRs (há estudos que defendem o oposto: ver Lombardo et al., 2015 (27)), contribuindo para a desregulação glutamatérgica que se observa nesta patologia (ver Figura 1.3) (27,30) e a uma diminuição da atividade anti-inflamatória que estes possuem (31,32). Os nAChRs que contêm a subunidade  $\beta_2$  são importantes na manutenção da homeostase durante o envelhecimento normal. (27)

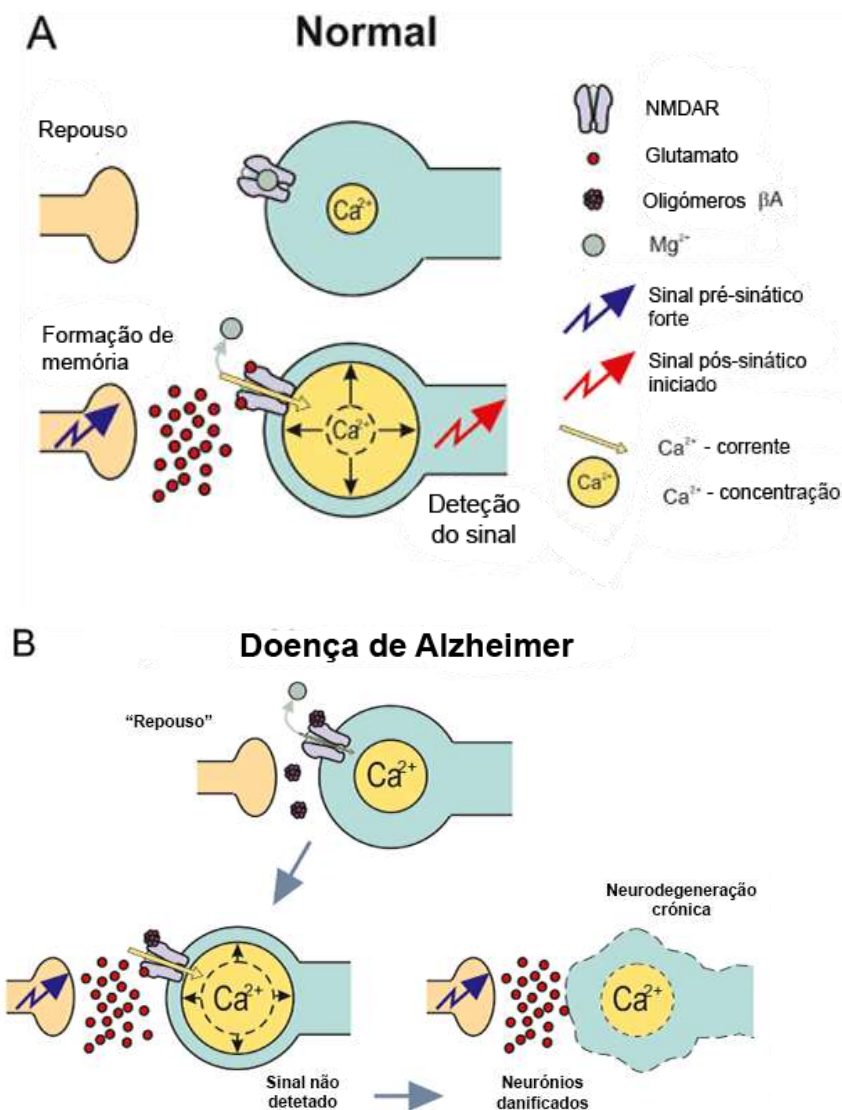
O recetor muscarínico (mAChR) mais relevante nas zonas do SNC responsáveis pelos processos de aprendizagem, cognição e memória é o M1. (33–35) A estimulação deste poderá traduzir-se, não só numa terapêutica sintomática, mas também numa terapêutica modificadora da doença uma vez que este promove a via não amiloidogénica, possivelmente através de interações com a  $\beta$ -secretase que permitem a sua regulação proteossomal, e diminui a fosforilação da tau. (33,34,36)

### 1.2.4 Sistema glutamatérgico

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do SNC. O NMDAR contribui para os mecanismos sinápticos de potenciação e depressão de longa duração, e o AMPAR (recetor do ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico) para a neurotransmissão excitatória rápida. Na DA há uma perda de neurónios glutamatérgicos, anomalias na expressão dos recetores deste sistema, disfunções na neurotransmissão do glutamato e perda de plasticidade sináptica: a  $\beta$ A estimula a libertação de glutamato, inibe o seu uptake, promove a internalização dos NMDARs sinápticos, e ativa os eNMDARs, levando a um processo de excitotoxicidade (Figura 1.3 e Figura 1.4) e promove a internalização dos AMPAR, inibindo a transmissão que ocorre por parte destes. (30,37–41) Encontrando-se ambos os recetores envolvidos na potenciação a longo termo, a base dos processos de

Diagram illustrating the pathophysiology of Alzheimer's disease in a synapse, showing the interaction between the presynaptic neuron (Neurônio pré-sináptico), the postsynaptic neuron (Neurônio pós-sináptico), and the astrocyte (Astrócito).

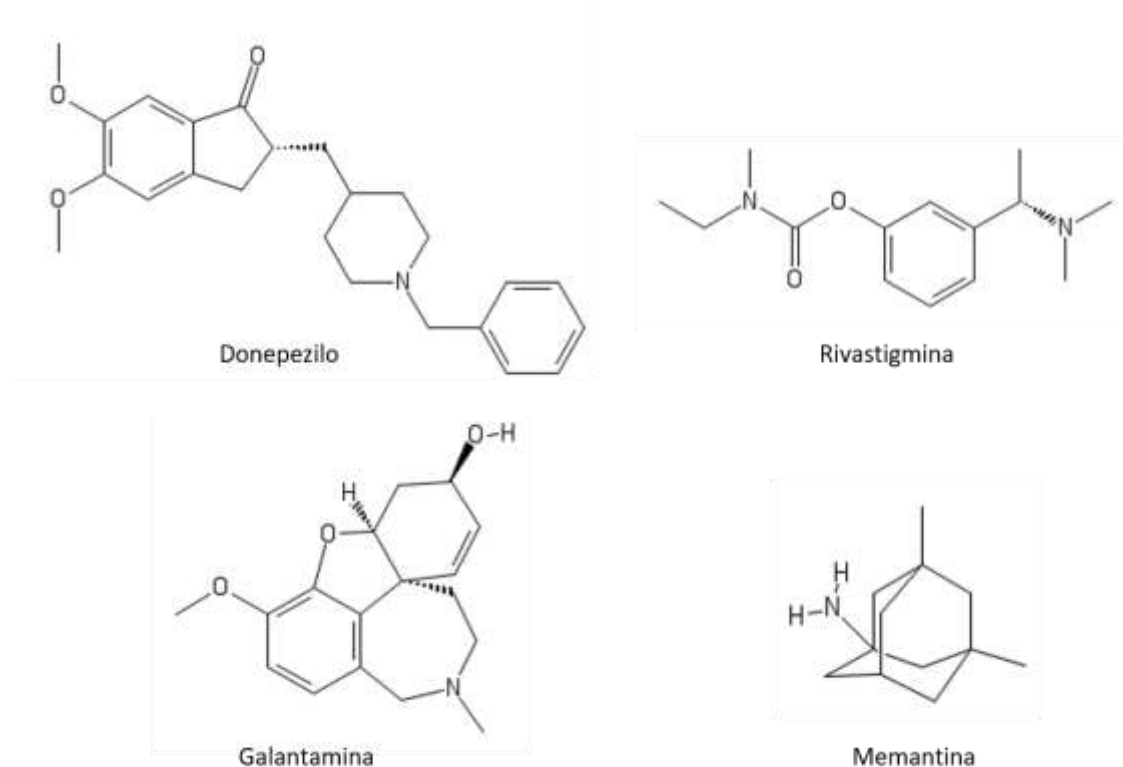
The diagram shows the release of neurotransmitters (Acetylcholine, Nicotine, Glutamate) from the presynaptic terminal (Terminal axônico) into the synaptic cleft. The postsynaptic neuron has receptors for these neurotransmitters (α7nAChRs, NMDA, AMPA). The diagram illustrates the role of calcium (Ca<sup>2+</sup>) in the pathophysiology of Alzheimer's disease. Increased intracellular calcium (↑Ca<sup>2+</sup>) leads to the activation of PP2B, which in turn activates STEP<sub>α</sub>, leading to the activation of Fyn. Fyn then activates the GSK-3β/APP pathway, leading to the production of Aβ. Aβ is shown binding to α7nAChRs and APP, leading to the activation of APP. APP is also shown binding to Aβ, leading to the formation of Aβ oligomers. The diagram also shows the role of the ERK pathway in the postsynaptic neuron. The legend identifies the components: α7nAChRs (red), NMDA (purple), AMPA (orange), APP (yellow), Acetylcholine (blue), Nicotine (red), Glutamate (green), and βA (purple). The diagram is labeled with "Atrofia neuronal", "Disfunção sináptica", and "Morte neuronal" at the bottom.



**Figura 1.4 – Esquema da origem hipotética da neurodegeneração provocada pelo processo de excitotoxicidade.** Em situações fisiológicas (A), nomeadamente de formação de memória, há libertação de glutamato na fenda sináptica que ativa os NMDARs. Esta ativação leva a um aumento brusco do cálcio intracelular, sendo despoletado um sinal pós-sináptico. Na DA (B), devido a uma sobre-ativação tónica dos NMDARs, os níveis de cálcio intracelular são, em situações de “repouso”, superiores aos observados em condições fisiológicas. Assim, quando um novo sinal chega ao neurónio pós-sináptico, o aumento da concentração de cálcio não é suficiente para que o sinal seja reconhecido e propagado. Fica assim posto em causa o processo de aprendizagem/plasticidade que, com o decorrer do tempo, leva a toxicidade sináptica e a morte neuronal. Adaptado de Danysz et al, 2012. (37)

### 1.3 Terapêutica atual

São quatro os fármacos aprovados pela EMA e pela FDA: donepezilo, rivastigmina, galantamina e memantina. Os três primeiros são inibidores da acetilcolinesterase (IAChEs). Impedem a degradação da acetilcolina na fenda sináptica, promovendo o aumento dos seus níveis. A memantina é um antagonista não competitivo do NMDAR. (3) Parece também inibir a GSK-3 $\beta$  e ativar a proteína fosfatase 2A (PP2A), envolvida na desfosforilação da tau. (42–44) Os primeiros são geralmente mais eficazes numa fase inicial da doença. A memantina é a única que é efetiva em estádios mais tardios. (3) Podem ser utilizados em combinação. Estas terapêuticas atuam nos sintomas, reduzindo o declínio cognitivo e alguns comportamentos problemáticos, não intervindo na progressão da doença. Têm ainda efeitos secundários, dependentes da dose, e que não permitem o aumento da mesma para maior eficácia. (28,45,46) Há doentes que não respondem à terapêutica. (3)



**Figura 1.5 – Estrutura dos fármacos aprovados atualmente para o tratamento sintomático da DA**

## 2. Novas terapêuticas na Doença de Alzheimer

### 2.1 A $\beta$ -amiloide como alvo terapêutico

#### 2.1.1 Aumento da eliminação: Imunoterapia anti- $\beta$ -amiloide

Na imunoterapia ativa é administrado um antigénio (Ag), por exemplo, uma porção de  $\beta$ A, que promove a maturação de linfócitos B e consequente produção de anticorpos (Acs) com elevada afinidade para este. Na passiva, os Ac são administrados diretamente no organismo. Após ligação Ac-Ag o complexo é eliminado: o modelo de ação central defende que os complexos são fagocitados pela microglia, e o mecanismo de eliminação periférico assume que estes atravessam a BHE para a circulação periférica. (47) Vários autores assumem que podem ocorrer ambos em simultâneo. (48,49)

**Tabela 2.1 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação de  $\beta$ -amiloide através da imunização ativa.**

Nome; empresa	1ºen- saio	Fase atual	
<b>AN-1792; Pfizer</b>	Abr 2000	X	Constituída por $\beta$ A <sub>1-42</sub> sintética e um adjuvante Th1, o QS21. Ensaio de fase II foi terminado precocemente devido ao aparecimento de reações adversas graves (meningoencefalite, angiopatia, micro-hemorragias) por desenvolvimento de autoimunidade por parte dos linfócitos Th1. (50–52) Aparentemente, reduziu a formação de placas amiloides (50,51), mas um estudo posterior verificou que não foi eficaz no declínio cognitivo. (53)
<b>CAD106; Novartis</b>	Jun 2005	Fase II	Composta por fragmentos $\beta$ A <sub>1-6</sub> acoplados a um <i>carrier</i> , o bacteriófago $\beta$ Q, com hidróxido de alumínio como adjuvante. (54–57) Em 2015 foi iniciado um ensaio de fase II/III (ensaio Generation S1) para avaliar a eficácia do CAD106 e do CNP520 (ver Tabela 2.4), administrados separadamente, em indivíduos com risco de desenvolver DA, que durará até 2023. Os restantes ensaios já completados testaram a eficácia e segurança de diferentes formulações em doentes com DA ligeira a moderada ou apenas ligeira. (52,58)
<b>Vanutide cridificar (ACC- 001); Pfizer e Janssen</b>	Mai 2007	X	Composta por $\beta$ A <sub>1-7</sub> conjugada a um transportador da toxina diftérica mutada. (59,60) Administrada em conjunto com o adjuvante QS21 (52), para a obtenção de uma resposta imunitária de grau adequado. (59) Vários ensaios de fase II foram realizados, a maioria em DA ligeira a moderada, mas também em DA em estado precoce. (52)

**Tabela 2.1 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação de  $\beta$ -amiloide através da imunização ativa.**

Nome; empresa	1ºen- saio	Fase atual	
<b>AFFITOPE AD02;</b> <b>Affiris AG</b>	Fev 2008	X	AFFITOPES são péptidos curtos que mimetizam porções da $\beta A_{42}$ que não são comuns a outras proteínas do organismo, nomeadamente a região N-terminal livre, com hidróxido de alumínio como adjuvante. (61–63) Alcançou ensaios de fase II para avaliação da atividade clínica e imunológica, segurança e tolerabilidade de diferentes doses/formulações em doentes com DA precoce; um estudo de follow-up também foi realizado. (52) Não foi eficaz. (63)
<b>UBITh (UB 311);</b> <b>United Neuroscience</b>	Fev 2009	Fase II	Composta por dois péptidos, leva à produção por parte do organismo de IgG anti $\beta A_{1-14}$ , e utiliza um <i>delivery system</i> que ativa preferencialmente os linfócitos T <i>helper</i> 2 (Th2). (64) Um estudo de fase I foi realizado em DA ligeira a moderada. Um estudo observacional posterior seguiu os indivíduos que tinham recebido o tratamento. Um estudo de fase II está em andamento até dezembro de 2017 em DA ligeira. (52)
<b>Lu AF20513;</b> <b>Lundbeck</b>	Mar 2015	Fase I	Utiliza repetições de $\beta A_{1-12}$ intercaladas com epítomos da toxina do tétano com o objetivo de estimular os linfócitos T de memória que foram originados aquando da toma da vacina do tétano na infância a estimular os linfócitos Th, que por sua vez ativam os B. (65) Ensaio ativo até outubro de 2018 em DA ligeira. (52)

Moléculas que não passaram de ensaios de fase I:

**AFFITOPE AD01** (Affiris AG), **AFFITOPE AD03** (Affiris AG). (52)

**Tabela 2.2 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação de  $\beta$ -amiloide através da imunização passiva, de acordo com a região em que atuam.**

Nome; empresa	1ºen- saio	Fase atual	
<b>Antirregião N-terminal</b>			
<b>Bapineuzumab (AAB-001);</b> <b>Pfizer</b>	Abr 2005	X	mAc IgG1 que se liga ao epítipo $\beta A_{1-5}$ livre, tanto de formas solúveis como insolúveis da $\beta A$ (maior afinidade para os oligómeros). (66–68) Quatro ensaios de fase III em que se encontrava foram terminados prematuramente em 2012: dois por não atingirem os objetivos primários (diminuição do declínio cognitivo) e os restantes como consequência disso (69,70). Durante o seu estudo foram observadas anomalias imagiológicas relacionadas com a amiloide (ARIA), como a ARIA-E, sugestiva de edema vasogénico e efusão sulcral, e ARIA-H, sugestiva de micro-hemorragia e hemossiderose. (71,72) Estas reações resultam da sobre-ativação da microglia. (ver mecanismo de ação no anexo A3)
<b>Aducanumab (BIIB037);</b> <b>Biogen</b>	Jun 2011	Fase III	mAc IgG1 que reage principalmente com agregados e fibrilhas insolúveis, mas também com monómeros solúveis. (49,68,73) Foram verificados casos de ARIA, principalmente E, dose-dependentes e mais comuns em portadores do alelo APOE $\epsilon 4$ . (49) Estão a decorrer, até 2022, dois ensaios de fase III (EMERGE e ENGAGE) com doentes num estado inicial da doença. (52)



**Tabela 2.2 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação de  $\beta$ -amiloide através da imunização passiva, de acordo com a região em que atuam.**

Nome; empresa	1º en- saio	Fase atual	
<b>Antirregião central</b>			
<b>Solanezumab (LY2062430); Eli Lilly</b>	Mai 2006	Fase III	mAc IgG1 que atua ligando-se a monómeros $\beta A$ , através do epítipo $\beta A_{16-26}$ (74) Dois ensaios de fase III (EXPEDITION e EXPEDITION2), em doentes com DA ligeira a moderada, tiveram resultados negativos. Observou-se, contudo, uma diminuição significativa do declínio cognitivo no subgrupo dos doentes com DA ligeira. (75,76) No entanto, o EXPEDITION3, já apenas em doentes com DA ligeira, também falhou, assim como o ExpeditionPRO, em doentes com DA Prodrómica. (77) Encontra-se ativo um ensaio de fase III em idosos com risco de perda de memória (A4), até 2020. (78) Assim como o gantenerumab, faz ainda parte do ensaio DIAN-TU, fase II/III. É um ensaio preventivo em indivíduos com DA autossómica dominante que ainda não apresentem a patologia ou que se encontrem num estadio precoce. (52,79,80) Está previsto durar até 2019. (52) (ver mecanismo de ação no anexo A4)
<b>Crenezumab (MABT5102A); Genentech</b>	Nov 2012	Fase III	mAc IgG4 que se liga ao epítipo central $\beta A_{13-24}$ (68,81); tem maior afinidade para as formas agregadas. (68,73,81,82) Os ensaios de fase II ABBY e BLAZE, em doentes com DA ligeira a moderada, não mostraram eficácia, mas verificou-se um maior efeito da terapêutica nos doentes com DA ligeira. (83) Assim, é em doentes com DA ligeira e prodrómica que se realizam os ensaios de fase III CREAD e CREAD2, previsto terminarem em 2021 e 2022, respetivamente. Está também ativo um ensaio de fase I para avaliar várias doses do mAc e um de fase II em DA autossómica dominante em portadores da mutação E280A da presinilina1. (52) (ver mecanismo de ação no anexo A5)
<b>Antirregião N-terminal e central</b>			
<b>Gantenerumab (R1450); Roche</b>	Dez 2006	Fase III	mAc IgG1 que se liga à região $A\beta_{1-11}$ e $A\beta_{19-26}$ . Interage preferencialmente com os agregados, uma vez que a conformação péptica que reconhece não está presente nos monómeros. (84) Estão a decorrer dois ensaios de fase III, um em DA Prodrómica e outro em DA ligeira, até 2019. Faz ainda parte do ensaio DIAN-TU (ver “Solanezumab”). (52) (ver mecanismo de ação no anexo A6)
<b>Antirregião C-terminal</b>			
<b>Ponezumab (PF-04360365); Pfizer</b>	Mar 2007	X	mAc IgG2 anti- $\beta A_{40}$ (monómeros, oligómeros e fibrilhas) que atua em $\beta A_{30-40}$ . Tem duas mutações que impedem a sua ligação à microglia, ocorrendo a clearance através do mecanismo de eliminação periférico (85) Participou em ensaios de fase II, em DA ligeira a moderada e em indivíduos com angiopatia cerebral amiloide. (52,86) (Ver mecanismo de ação em La Porte et al, 2012. (85))

**Tabela 2.2 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação de  $\beta$ -amiloide através da imunização passiva, de acordo com a região em que atuam.**

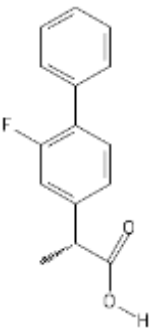
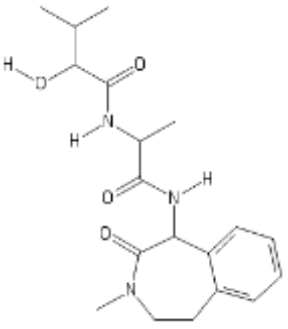
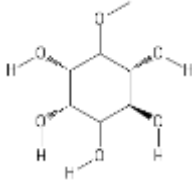
Nome; empresa	1º en- saio	Fase atual	
<b>Zona alvo não divulgada</b>			
<b>BAN2401; Eisai</b>	Ago 2010	Fase II	mAc IgG1. Tem como alvo as protofibrilhas solúveis. (73,82,87,88) O ensaio de fase II será concluído em 2018, e pretende avaliar a segurança, tolerabilidade e eficácia do Ac em doentes com DA precoce. (52,58)
<b>SAR-228810; Sanofi</b>	Jan 2012	Fase I	mAc IgG4 com reduzida afinidade para o recetor Fc $\gamma$ . Dirigido às espécies protofibrilares e fibrilares solúveis. (89) Foi realizado um ensaio de fase I em DA ligeira a moderada. (52)
<b>MEDI1814; AstraZeneca e Eli Lilly</b>	Fev 2014	Fase I	Liga-se à $\beta A_{42}$ monomérica. (90) Foi realizado um ensaio de fase I em DA ligeira a moderada. (52)
<b>KHK6640; Kyowa Hakko Kirin</b>	Jul 2014	Fase I	Encontra-se a decorrer o terceiro ensaio de fase I em DA ligeira a moderada até 2018. (52)
<b>Anti-pirrolutamil-<math>\beta A</math></b>			
<b>LY3002813; Eli Lilly</b>	Mai 2013	Fase I	Tem como alvo a $\beta A_{p3-42}$ . Esta modificação pós-translacional é realizada pela glutaminil ciclase e está presente nas placas amiloides (ver subcapítulo “2.1.2.2 Outros”). (91) Terminou em maio do presente ano, 2017, um ensaio em indivíduos com declínio cognitivo ligeiro (DCL) devido a DA ou DA ligeira a moderada. Está a decorrer um segundo ensaio com a mesma população alvo até 2020. (52)
<b>Ac policlonais</b>			
Imunoglobulinas intravenosas (IVIG) são um produto obtido do fracionamento do plasma de indivíduos saudáveis. (92) Os Ac IgG policlonais obtidos podem atuar em mais que um dos processos envolvidos na doença, por mais que uma das vias. (93)			
<b>Gammagard; Baxter Healthcare</b>	Fev 2006	X	IVIG 10%. Apesar de um ensaio de fase II, em DA ligeira a moderada, ter mostrado uma redução do declínio cognitivo, o mesmo não aconteceu num estudo de fase III. (93) Outros estudos de fase III que estavam a decorrer foram terminados prematuramente devido a estes resultados. (52)
<b>Octagam; Octapharma</b>	Fev 2009	Fase II	IVIG 10%. Num ensaio de fase II, em doentes com DA ligeira, foi seguro, mas não foi eficaz. (52,58,94)
<b>Flebogamma; Grifols Biologicals</b>	Mar 2012	Fase II/III	IVIG 5% + albumina 20%. O ensaio AMBAR, de fase II/III, em doentes com DA ligeira a moderada, terminou em 2016. (52) Apenas os resultados intermédios do estudo são conhecidos, tendo-se mostrado seguro. (95)
<b>NewGam; Octapharma</b>	Jan 2011	Fase II	IVIG 10%. Atualmente num ensaio de fase II em indivíduos com ligeira redução cognitiva amnésica, que terminará em novembro de 2017. (52)
Moléculas que não passaram de ensaios de fase I:			
<b>GSK933776</b> (GlaxoSmithKline) (48,52,96), <b>AAB-003</b> (Pfizer) (52,97), <b>LY2599666</b> (Eli Lilly) (52)			

## 2.1.2 Diminuição da produção de $\beta$ -amiloide

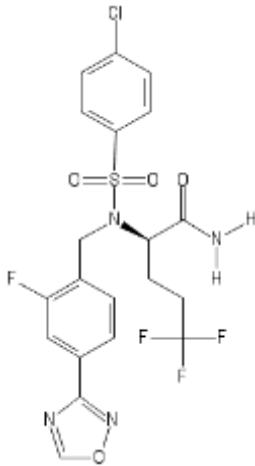
### 2.1.2.1 Inibidores e moduladores da $\gamma$ -secretase

A APP não é o único substrato deste complexo enzimático. O Notch, um recetor da superfície celular envolvido em vias de sinalização essenciais para alguns aspetos do desenvolvimento e diferenciação, é um dos seus alvos mais relevantes. (98) A maioria das moléculas que chegou a ensaios clínicos foi descontinuada por toxicidade (exemplo: aumento da incidência de infeções e cancro de pele) devido ao bloqueio da proteólise deste recetor.

**Tabela 2.3 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de  $\beta$ -amiloide através da modulação e bloqueio da  $\gamma$ -secretase**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>R-Flurbiprofeno (Tarenfluril); Myrexis</b>		Fev 2005	X  É um AINE, existindo estudos de que alguns dos fármacos pertencentes a este grupo conseguem modular a atividade da $\gamma$ -secretase (99–104). Apenas um dos ensaios de fase III foi concluído, tendo os restantes sido terminados prematuramente devido à descontinuação do desenvolvimento do fármaco por falta de eficácia. (52)
<b>Semagacestat (LY450139); Eli Lilly</b>		Jul 2006	X  Apenas um dos ensaios de fase III foi concluído. Os restantes terminaram precocemente por falta de eficácia e devido a efeitos secundários, nomeadamente aumento da incidência de infeções e cancro de pele, provavelmente resultantes da inibição simultânea do Notch. (52,98,105,106)
<b>NIC5–15 (D-pinitol); Humanetics Pharmaceuticals Corporation</b>		Jan 2007	X  Não afeta o Notch e é sensibilizador da ação da insulina. (107,108) Foram realizados dois ensaios de fase II em DA tendo o último terminado em 2014. (52)

**Tabela 2.3 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de  $\beta$ -amiloide através da modulação e bloqueio da  $\gamma$ -secretase**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Avagacestat (BMS-708163); Bristol-Myers Squibb</b>		Jun 2007	X
Desenhado para inibir seletivamente a síntese de $\beta$ A. Vários estudos afirmaram que não interferia com o Notch. (109–112) Isto foi posto em causa aquando da análise dos resultados dos estudos de fase II em que os indivíduos a fazerem doses mais elevadas desenvolveram efeitos adversos, principalmente gastrointestinais, e se verificou um aumento do risco de desenvolvimento de cancro de pele. Também não se mostrou eficaz (113,114), terminando precocemente o ensaio de fase II que estava ativo. (52,98) A falta de seletividade foi posteriormente confirmada. (115)			
Moléculas que não passaram de ensaios de fase I: <b>ELND006</b> (Elan Corporation) (116), <b>Begacestat</b> (Pfizer) (52,98).			

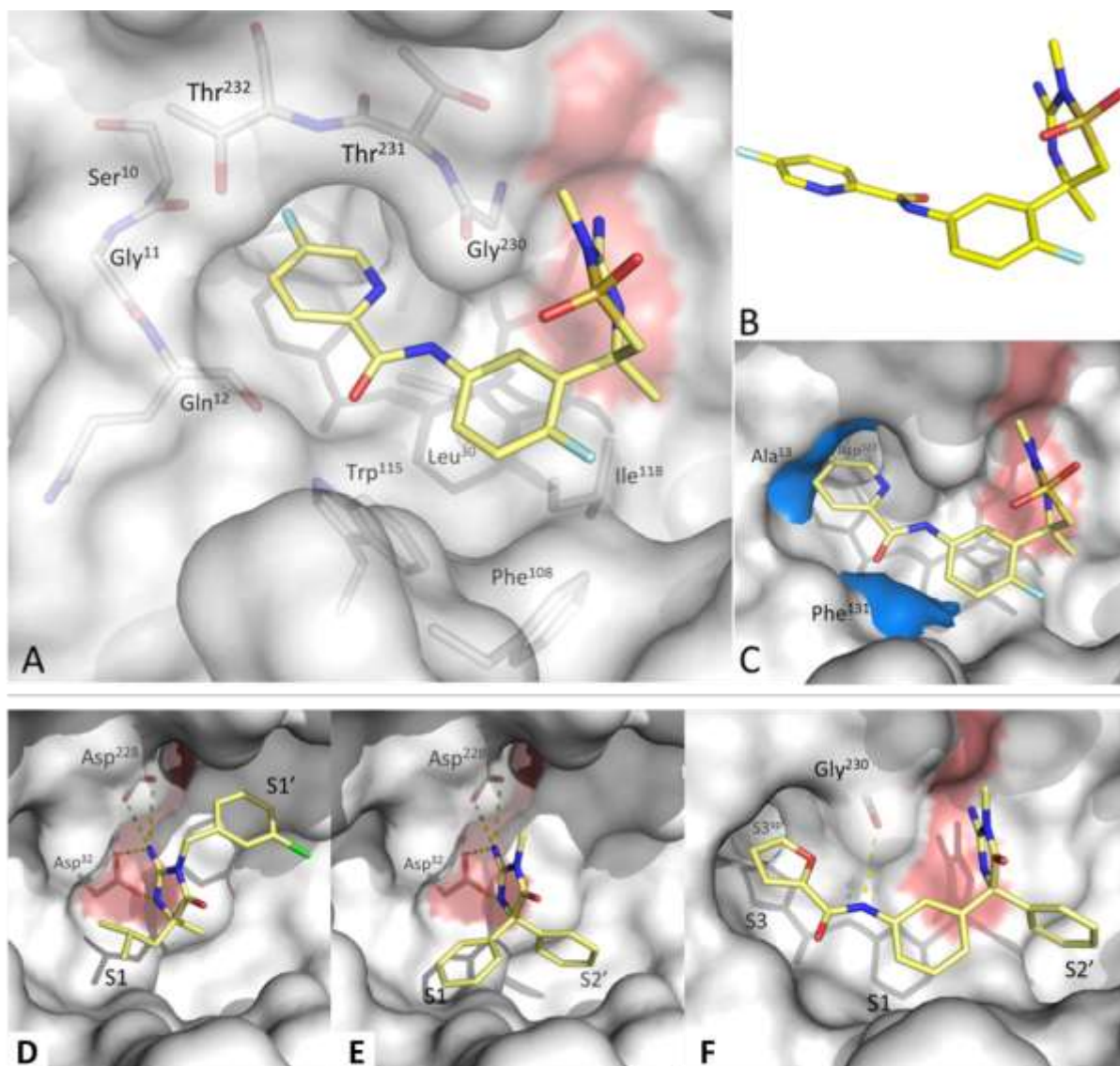
#### 2.1.2.2 Inibidores e moduladores da $\beta$ -secretase

A BACE-1 apresenta outras funções e substratos para além dos envolvidos na DA, podendo existir efeitos secundários associados à sua inibição (98,117–120); apesar disto, os mesmos não aparentam ser tão limitativos como os observados para a  $\gamma$ -secretase. As primeiras tentativas de inibição da enzima foram realizadas com peptidomiméticos que, apesar de potentes e seletivos, apresentavam baixa biodisponibilidade. (73,121,122) Passou-se ao desenvolvimento de inibidores não peptídicos com pesos moleculares inferiores. Uma das dificuldades encontradas foi conseguir uma seletividade elevada para a BACE-1 em relação a outras proteases aspárticas, como a BACE-2, com quem partilha mais de 60% de homologia. (98,123)

O **elenbecestan**, o **verubecestat**, o **lanabecestat** e o **JNJ-54861911** encontram-se em fase III, o **CNP520** em fase II, e o gemfibrozil, em fase I. Há evidência clínica resultante de estudos anteriores de que estas moléculas reduzem os níveis de  $\beta$ A no plasma e no LCR, com exceção do gemfibrozil cuja informação ainda não está disponível (124–132). Informação mais detalhada quanto à descoberta e desenvolvimento apenas está disponível para o verubecestat.

O **verubecestat** mostrou, in vitro, não inibir significativamente a catepsina D e E, a pepsina ou a renina, importantes enzimas aspárticas do organismo, no entanto, tem elevada

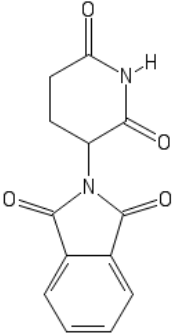
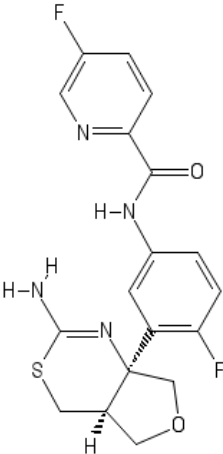
afinidade para a BACE-2. Quanto à sua ligação à BACE-1: estabelecem-se ligações de hidrogénio entre os dois azotos dadores de hidrogénio do núcleo iminotiadiazínico da molécula e o Asp32 e o Asp228 do centro ativo da enzima, e a porção tiadiazínica ocupa ainda o *pocket* hidrofóbico S1 (definido pelos resíduos Leu30, Phe108, Trp115 e Ile118); a amida forma uma ligação de hidrogénio com a Gly230; e o anel fluoropiridínico encontra-se no *pocket* S3 (definido pela Ser10, Gly11, Gln12, Gly230, Thr231 e Thr232), com o átomo de fluor a estender-se para o *subpocket* S3. (133)



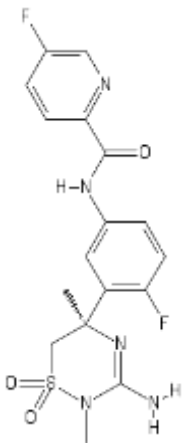
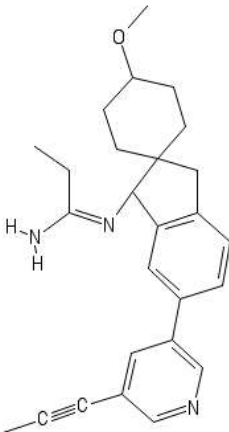
**Figura 2.1 – Esquema da interação do verubecestat com a  $\beta$ -secretase.** A) Conformação adotada pela molécula no centro ativo da enzima, com evidenciação de alguns dos resíduos que compõem o mesmo. B) Estrutura do verubecestat. C) Evidenciação a azul de resíduos da catepsina D; se a molécula estabelecesse interações com estes não seria tão seletiva para a secretase. D e E) Ligação entre moléculas com características semelhantes ao verubecestat que mostram as ligações de hidrogénio, que o próprio também faz, com o Asp32 e o Asp228. F) Ligação entre molécula com características semelhantes ao verubecestat que mostra a ligação de hidrogénio, que o próprio também faz, entre a amida e a Gly230. Adaptado de Scott et al, 2016. (133)

O **gemfibrozil**, comercializado como antilipidêmico, aumenta os níveis de miR-107, um microRNA que se encontra diminuído na DA e que tem como alvo a  $\beta$ -secretase. (134,135) Um ensaio de fase I, a decorrer até 2018, avaliará essa hipótese, assim como a segurança e a eficácia dessa modulação na prevenção da doença em indivíduos com pré-demência. (52)

**Tabela 2.4 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de  $\beta$ -amiloide através da modulação e bloqueio da  $\beta$ -secretase**

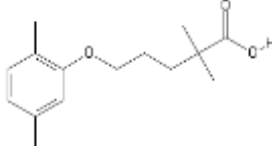
Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>Talidomida</b>		Mar 2010	X  Num ensaio de fase II/III, em DA ligeira a moderada, mais de metade dos participantes terminou o estudo precocemente por reações adversas. Nos que terminaram, a dose terapêutica estimada não foi atingida. Quanto à eficácia, os resultados foram negativos. (136)
<b>LY2886721; Eli Lilly</b>		Jun 2010	X  Ensaio de fase I/II foi terminado prematuramente por toxicidade hepática. (52) Informação sobre a estrutura-atividade em May et al 2015. (137)
<b>Elenbecestat (E2609); Eisai e Biogen</b>		Dez 2010	Fase III  Um ensaio de fase II em indivíduos com DA prodrômica e DA ligeira a moderada e dois de fase III em indivíduos com DA em estado inicial (MissionAD1 e MissionAD2), a decorrer até 2020. (52)

**Tabela 2.4 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de  $\beta$ -amiloide através da modulação e bloqueio da  $\beta$ -secretase**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Verubecestat (MK-8931); Merck</b>		Dez 2011	Fase III  Um ensaio de fase II/III (EPOCH), em doentes com DA ligeira a moderada, foi terminado precocemente por falta de eficácia. (52,138) Encontra-se num ensaio de fase III (APECS) até 2021 em indivíduos com DA prodrômica. (52)
<b>EVP-0962; FORUM Pharmaceuticals</b>		Nov 2012	X  Participou num ensaio de fase II em indivíduos saudáveis e em indivíduos com DCL ou DA em fase precoce. (52)
<b>Lanabecestat (AZD3293; LY3314814); AstraZeneca e Eli Lilly</b>		Dez 2012	Fase III  3 ensaios ativos: um de fase II/III em indivíduos com DA em estado inicial (AMARANTH) e dois de fase III, um novamente em indivíduos com DA em estado inicial, sendo uma extensão do estudo AMARANTH, e outro em doentes com DA ligeira (DAYBREAK-ALZ). Terminarão em 2019, 2020 e 2021, respetivamente. (52)
<b>JNJ-54861911; Janssen Pharmaceutica e Shionogi</b>		Mar 2013	Fase II/III  Em fase II em indivíduos no início da DA, e em fase II/III (EARLY) em indivíduos assintomáticos, mas em risco de virem a desenvolver a doença, até 2022 e 2023, respetivamente. (52)
<b>CNP520 (AMG 520); Amgen e Novartis</b>		Ago 2015	Fase II  Mostrou-se seguro e tolerável num ensaio de fase II em indivíduos com 60 ou mais anos de idade. (139) Encontra-se, até 2023, num ensaio de fase II (ensaio Generation), em conjunto com o CAD106, em que se pretende avaliar a eficácia destes fármacos, administrados separadamente, em indivíduos com risco de desenvolver DA. (52)



**Tabela 2.4 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de  $\beta$ -amiloide através da modulação e bloqueio da  $\beta$ -secretase**

Nome; empresa	Estrutura	1º ensaio	Fase atual
<b>Gemfibrozil</b>		-	Fase I

Moléculas que não passaram de ensaios de fase I:

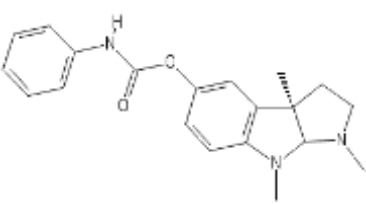
**CTS21166** (CoMentis) (121), **BI 1181181** (Boehringer Ingelheim, Vitae Pharmaceuticals) (140,141), **HPP854** (vTv Therapeutics) (52), **RG7129** (Roche) (141), **LY2811376** (Eli Lilly) (141,142)

### 2.1.2.2 Outros

O **posiphen** diminui a produção de APP ao regular a mesma ao nível pós-transcricional. A sua ligação ao elemento de resposta ao ferro, situado na região 5' não traduzida do mRNA, facilita a ligação da proteína reguladora do ferro I ao mesmo, diminuindo consequentemente a tradução do mRNA. (143,144) Também atua na neuroinflamação, diminuindo alguns dos seus biomarcadores. (143,145,146) Encontra-se em fase II e em estudos anteriores foi seguro e bem tolerado. (145)

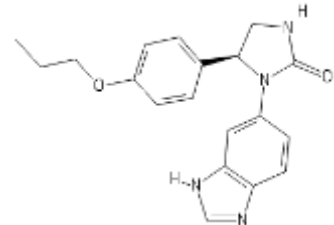
Estudos sugerem que a maioria da  $\beta$ A agregada na DA se encontra truncada ou modificada pós-translacionalmente na região N-terminal. A piroglutamil- $\beta$ A é uma dessas formas modificadas e é particularmente neurotóxica por acelerar a agregação e por apresentar reduzida degradação pelas peptidases. A sua formação é catalizada pela glutamil ciclase. (147) O **PQ912** é um inibidor desta enzima. Em fase I mostrou-se seguro e bem tolerado. (148,149) Encontra-se em fase II.

**Tabela 2.5 – Outras moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de  $\beta$ A**

Nome; empresa	Estrutura	1º ensaio	Fase atual
<b>Posiphen ((+)-fenserina); QR Pharma</b>		Fev 2010	Enantiómero positivo da fenserina, sem a atividade anticolinesterase desta. (143,145) Irá decorrer até 2018 um ensaio de fase IIa em DA ligeira a moderada. (52)



**Tabela 2.5 (continuação) – Outras moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da produção de  $\beta$ A**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>PQ912; Probiodrug</b>		Jun 2014	Terminou em abril deste ano, 2017, um ensaio de fase II em doentes com DA em estadio precoce. (52)

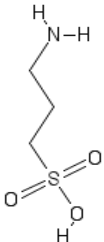
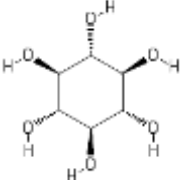
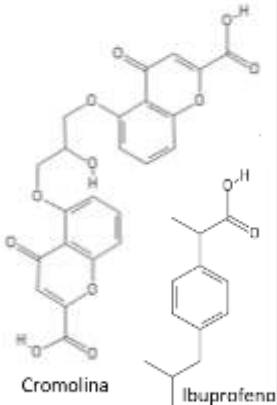
### 2.1.3 Diminuição da agregação de $\beta$ -amiloide

O **escino-inositol** inibe a agregação dos monómeros e promove a desagregação dos agregados já existentes (150,151), atuando principalmente ao nível da  $\beta A_{42}$  através da interação com os dois resíduos C-terminais e com os resíduos envolventes responsáveis pela estabilização da estrutura. (152,153) Atua também nos níveis de mio-inositol, diminuindo-os, podendo assim influenciar vias de sinalização e transdução de sinal relacionadas com neurotransmissão e fatores de crescimento. (151,154,155) Num ensaio clínico verificou-se uma melhoria dos sintomas neuropsiquiátricos dos participantes, nomeadamente depressão, ansiedade, apatia, e irritação (151,153,155), podendo este efeito estar relacionado com os níveis de mio-inositol (156). Ensaios clínicos em DA não atingiram os objetivos primários (151,157) encontrando-se a molécula em ensaios de fase II para a agitação/agressão na DA (52).

O **GV-971** liga-se a várias regiões da  $\beta$ A, promovendo a sua dissociação em monómeros solúveis e, conseqüentemente, a sua clearance. Em ensaios pré-clínicos também reduziu os níveis de atividade da acetilcolinesterase, sem interagir diretamente com esta. Em ensaio de fase II foram verificadas melhorias em alguns dos participantes, a maioria não significativa. No mesmo ensaio verificou-se ainda uma melhoria do metabolismo da glucose cerebral. (158) Está em fase III.

**ALZT-OP1** é uma combinação de ALZT-OP1a (Cromolina), um estabilizador dos mastócitos que atua como anti-inflamatório, e ALZT-OP1b (Ibuprofeno), também um anti-inflamatório. (52) Estudos prévios indicam que ambos apresentam atividade antiagregante. (159,160) Encontra-se em fase III.

**Tabela 2.6 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da agregação da  $\beta$ -amiloide**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual	
<b>Tramiprosato (3APS); Bellus Health</b>		-	X	Agonista GABA <sub>A</sub> com atividade antiagregante da $\beta$ A e com efeito protetor contra o dano oxidativo, principalmente ao nível do DNA. Favorece a polimerização da tau, no entanto, não influencia a sua ligação aos microtúbulos levando ainda a uma diminuição dos complexos tau-actina. Um ensaio de fase III (ALPHASE), em DA ligeira a moderada, em doentes a fazer IACHes em associação ou não com memantina, foi inconclusivo. Uma análise secundária mostrou que poderia ter um efeito benéfico e protetor na memória. (161) Ao não obter aprovação por parte da FDA, foi comercializado como suplemento alimentar no Canadá. Os seus direitos foram passados para a FB Health e é comercializado sobre o nome de VIVIMIND. (162) Um pró-fármaco (ALZ-801) está em desenvolvimento (fase II) segundo a pipeline da Alzheon, no entanto não existem registos dos ensaios clínicos nas bases de dados consultadas. (163)
<b>Escino-inositol (ELND005); Transition Therapeutics</b>		Dez 2007	Fase II	Foram realizados dois ensaios de fase II em DA (52), num dos quais as doses mais elevadas foram descontinuadas devido a efeitos adversos, nomeadamente, mortes e infeções graves. (151) Os ensaios mais recentes tiveram como alvo a agitação e agressão na DA. O último foi terminado prematuramente por falta de eficácia. (52,152) Posterior análise dos resultados mostrou melhorias significativas no subgrupo com sintomas severos. (164)
<b>GV-971; Shanghai Green Valley Pharmaceutical</b>		Out 2011	Fase III	Está em curso um ensaio de fase III em DA ligeira a moderada, até outubro de 2017. (52)
<b>ALZT-OP1; AZTherapies</b>		Jun 2015	Fase III	Ensaio de fase III em DA em estadio precoce a decorrer até 2018. (52)

## 2.2 A proteína tau como alvo terapêutico

### 2.2.1 Aumento da eliminação: Imunoterapia antitau

Sendo a tau uma proteína intracelular, há dúvidas quanto ao mecanismo pelo qual os Ac atingem a mesma e ao que sucede a essa ligação (165,166): ou os Ac são internalizados pelos neurónios, ou a tau é excretada e neutralizada extracelularmente. (167)

**Tabela 2.7 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da eliminação da tau**

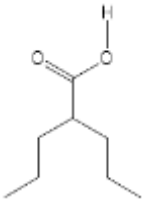
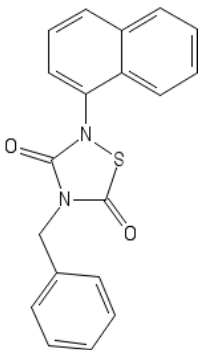
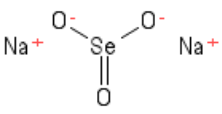
Nome; empresa	1º ensaio	Fase atual	
<b>Imunização Ativa</b>			
<b>AADvac1; Axon Neuroscience</b>	Mai 2013	Fase II	Tau <sub>294-305</sub> ligada a um transportador, a KLH, com hidróxido de alumínio como adjuvante, cujo alvo é um domínio envolvido na oligomerização e <i>misfolding</i> . Provoca uma resposta humoral, principalmente IgG1, mediada pelos Th2. (168) É específica para a proteína insolúvel (168,169), não afetando a tau fisiológica (solúvel). Revelou-se segura. (168,170) Atualmente em fase II em DA ligeira, até 2019. (52)
<b>ACI-35; AC Immune e Janssen Pharmaceuticals</b>	Dez 2013	Fase I	Vacina lipossômica com tau <sub>393-408</sub> , com as serinas 396 e 404 fosforiladas. (171) Ensaio de fase I, em DA ligeira a moderada, terminou em junho de 2017. (172,173) Sem ensaios ativos.
<b>Imunização Passiva</b>			
<b>ABBV-8E12 (C2N 8E12); AbbVie e C2N Diagnostics</b>	Jul 2015	Fase II	mAc direcionado à tau extracelular. (174) Ensaio de fase II em DA em estadio precoce a decorrer até 2021. (52)
<b>RO7105705 (RG 6100); AC Immune e Roche</b>	Jun 2016	Fase I	Ensaio de fase I em indivíduos saudáveis e em indivíduos com DA ligeira a grave terminado em junho de 2017. (52) Sem ensaios ativos.
Moléculas que não passaram de ensaios de fase I: <b>RG7345</b> (Roche) (175)			

### 2.2.2 Modulação da hiperfosforilação da tau

O **lítio**, comercializado como estabilizador de humor, inibe a GSK-3 $\beta$ , aumenta os níveis de neurotrofinas, fatores de crescimento do sistema nervoso, assim como dos seus recetores, diminui a neurotransmissão excitatória (dopamina e glutamato) e aumenta a inibitória (GABA). (42,176–179) Poucos ensaios com resultados divulgados, alguns positivos, outros negativos. (177) Encontra-se em fase IV.

O **selenato de sódio** promove a desfosforilação por ativação da proteína fosfatase 2A (PP2A - *protein phosphatase 2A*). (180,181) É seguro e bem tolerado. (182) Encontra-se em fase II.

**Tabela 2.8 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da fosforilação da tau**

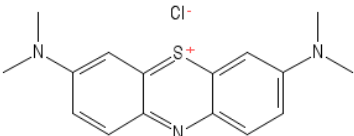
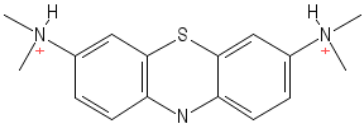
Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Ácido valproico</b>		-	X
<b>Lítio</b>		-	Fase IV
<b>Tideglusib (NP031112); Noscira</b>		Nov 2008	X
<b>Selenato de sódio (VEL015); Velacor Therapeutics</b>		Nov 2011	Fase II

### 2.2.3 Inibição da agregação e/ou estimulação da desagregação

O **LMTM** deriva do azul de metileno. Estudos realizados para o último mostram que este promove a dissolução dos agregados neurofibrilares, convertendo a tau resultante numa forma suscetível às proteases (190,191), aumenta a  $\beta$ -oxidação mitocondrial e inibe a MAO-A (190). A molécula liga-se ao domínio de repetição da tau, não afetando a interação tau-

tubulina que ocorre através deste. (191) Melhor tolerado que o azul de metileno, num ensaio de fase III em DA ligeira a moderada, em associação com IAChEs, não foi eficaz. Foi sugerido que interações resultantes da coterapia podem estar na origem destes resultados. (192,193)

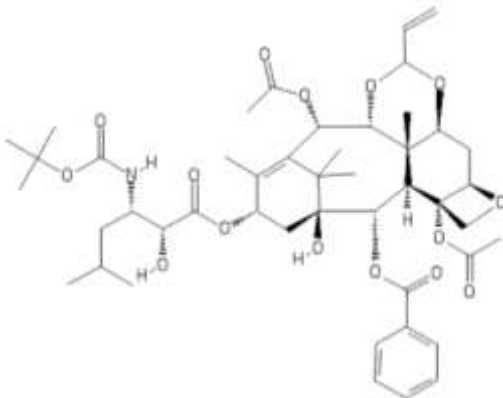
**Tabela 2.9 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da agregação da tau**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>Rember®</b> (TRx-0014; azul de metileno); TauRx Therapeutics		Ago 2004	X  Composto de primeira geração que antecedeu o LMTM. Descontinuado após ensaios de fase II por limitações ao nível da absorção e tolerância (194,195).
<b>LMTM</b> (TRx0237; LMTX); TauRx Therapeutics		Set 2012	Fase III  Versão reduzida do azul de metileno sendo melhor absorvido e tolerado. (190) Com 3 ensaios de fase III já terminados, encontra-se um quarto em andamento até setembro de 2017 em indivíduos com DA ou variante comportamental da demência frontotemporal. (52)

## 2.2.4 Estabilização dos microtúbulos

O **TPI 287** é um taxano que estabiliza os microtúbulos e que, ao contrário de outros taxanos utilizados como citotóxicos, tem capacidade de atravessar a BHE. (196) Encontra-se em fase I.

**Tabela 2.10 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da estabilização dos microtúbulos**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>TPI 287;</b> <b>University of California, San Francisco e CBD solutions</b>		Nov 2013	Fase I  Encontra-se em fase I, em indivíduos com DA ligeira a moderada. O ensaio termina a novembro de 2017. (52)

Moléculas que não passaram de ensaios de fase I: **Epotilona D** (Bristol-Myers Squibb) (52,167)

## 2.3 Neuroinflamação como alvo terapêutico

Vários estudos epidemiológicos sugerem que o uso prolongado de AINEs pode proteger contra a DA. No entanto, há estudos que negam esta associação, ou que defendem que a mesma depende do AINE utilizado. Muitos foram os ensaios realizados para determinar a eficácia de AINEs e outros anti-inflamatórios. Uma grande parte apresenta resultados negativos ou inconclusivos. (197)

O **naproxeno** é um AINE ainda em estudo na DA: encontra-se num ensaio preventivo de fase II em indivíduos cognitivamente saudáveis que possuem história familiar da doença. (52) Estudos anteriores tiveram resultados negativos.

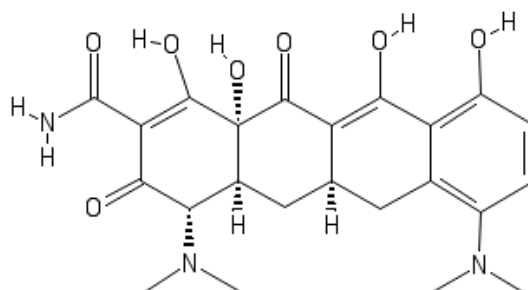
O **óleo de peixe** contém ácido docosahexaenoico e ácido eicosapentaenoico, dois ácidos gordos ómega-3 polinsaturados. São substrato de mediadores lipídicos com atividade anti-inflamatória (198–200), atuam como antioxidantes, regulam a colesterolemia, suportam o desenvolvimento e integridade neuronal. (201,202) O **ácido lipoico** atua principalmente como antioxidante. (203) Várias revisões sistemáticas e meta-análises concluíram que não há evidência de que sejam eficazes no tratamento da DA, mas que há possibilidade de melhorarem a performance das atividades diárias, podendo estar associados a um menor risco de desenvolver a doença. (201,204,205) Já participou em ensaios de fase III. Atualmente, o óleo de peixe encontra-se a ser avaliado num ensaio de fase II. (52)

A **curcumina**, um composto natural, para além da atividade anti-inflamatória e antioxidante, também influencia a deposição e agregação da  $\beta$ A e, possivelmente, o processamento da tau. Apesar de segura, não se tem mostrado eficaz. (206) Está em fase II.

O **etanercept** é uma proteína de fusão dimérica recombinante composta por porções de dois recetores p75 TNF- $\alpha$  humanos unidos ao fragmento Fc de uma IgG1. É capaz de neutralizar o TNF- $\alpha$ , uma das citocinas pró-inflamatórias envolvidas na neuroinflamação. (207,208) Estudos sugerem que a administração periespinal, necessária porque a proteína não atravessa a BHE (207), permite modular o sistema imunitário, com repercussões benéficas na DA (52), e é segura (208). Demonstrou ser eficaz em vários ensaios clínicos, mas não em todos aqueles em que participou. (208–211) Está a decorrer um ensaio para avaliar o seu efeito ao nível da ativação da microglia. (58)

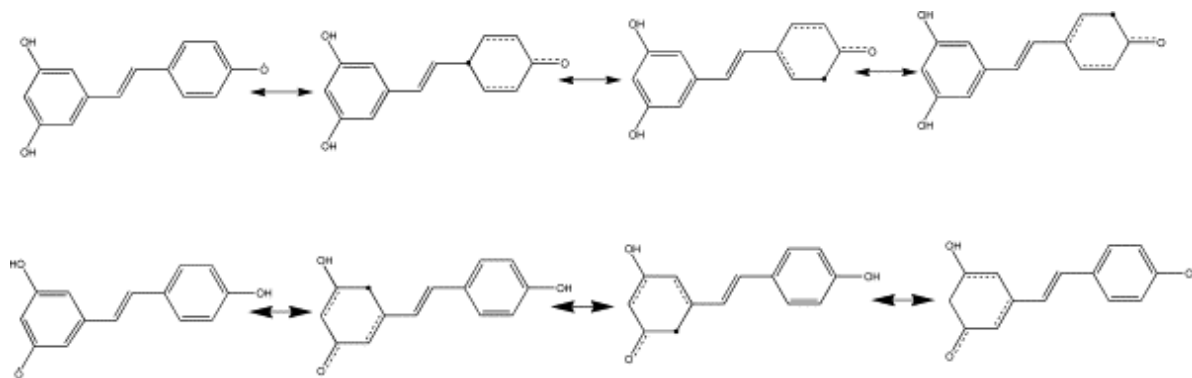
A **minociclina** é uma tetraciclina. Possíveis mecanismos anti-inflamatórios incluem: inibição dos linfócitos T, da transmigração dos neutrófilos, da libertação de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8) e de óxido nítrico, e aumento da libertação de citocinas anti-inflamatórias. (212,213) Consegue inibir o fenótipo pró-inflamatório da microglia, promovendo a fagocitose de  $\beta$ A. (214) Atua também como antioxidante pois neutraliza radicais (ver Figura 2.2), inibe a libertação de óxido nítrico e prostaglandina E2 pela microglia, com expressão diminuída da sintase do óxido nítrico e da cicloxigenase-2, e aumenta a expressão de

tio redoxina-1. (213,215) Aumenta ainda os níveis de proteínas antiapoptóticas e diminui a acumulação de proteínas apoptóticas e a liberação do citocromo c. (215) Encontram-se relatados efeitos contraditórios e/ou neutros em vários modelos de doenças neurológicas, mas não há informação quanto à DA. (216) Encontra-se em fase II.



**Figura 2.2 – Estrutura da minociclina.** Os grupos hidroxilo e o anel fenólico desempenham um papel fundamental para a sua atividade antioxidante. O grupo dimetilamino no carbono fenólico, ausente nas outras tetraciclinas, melhora o impedimento estérico, conferindo uma atividade antioxidante superior. (215)

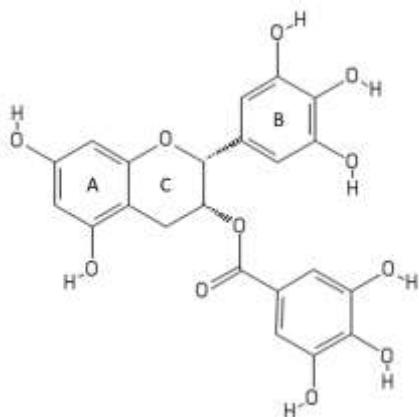
O **resveratrol** é um fenol natural com atividade anti-inflamatória e antioxidante. Diminui a neuroinflamação ao inibir biomoléculas pró-inflamatórias como as COX, prostaglandinas, TNF $\alpha$ , NF- $\kappa$ B. (217) Neutraliza os ROS, estabiliza os níveis de enzimas antioxidantes e de antioxidantes endógenos, diminui os níveis de NO, protege contra a neurotoxicidade pelo glutamato, e antagoniza as elevações citoplasmáticas de cálcio. (23) Dados obtidos num ensaio de fase II mostraram que este é seguro e bem tolerado, não se tendo verificado alterações na cognição. (218) Já participou em ensaio de fase III na DA e de fase IV no DCL. (52)



**Figura 2.3 – Estruturas de ressonância do resveratrol que lhe conferem capacidade de neutralização de radicais.** Retirado de Cao et al, 2003. (219)

**Epigallocatequina-3-galato** (EGCG) é o componente ativo predominante dos polifenóis do chá verde. (220,221) Atua como anti-inflamatório ao diminuir a liberação do ácido araquidónico e a produção de óxido nítrico, ao inibir a elastase leucocitária, responsável

por ativar metaloproteínas que induzem processos inflamatórios, e ao inibir mediadores pró-inflamatórios. (220,221) Como antioxidante, neutraliza radicais e aumenta os níveis de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. (220) Quela metais envolvidos na conformação da  $\beta$ A, como o alumínio e o cobre, e consequentemente, inibe a agregação desta, promove a desagregação, e/ou altera os agregados existentes para uma forma amorfa, menos tóxica. (220,221) A quelação do ferro permite ainda a regulação da APP através do seu domínio de resposta ao ferro (ver “posiphen”). Esta molécula modula ainda genes relacionados com a morte e a sobrevivência celular: em concentrações baixas aumenta os níveis de proteínas antiapoptóticas e diminui os níveis de proteínas apoptóticas. (220) O último ensaio foi de fase II/III.



**Figura 2.4 – Estrutura do EGCG.** Na ação como antioxidante o grupo orto-trihidroxilo, no anel B, e motivo galóilo na posição 3 do anel C são necessários à neutralização de radicais. (220,222) Na quelação, para além destes, participa o motivo orto-dihidroxilo do anel A e o 4-ceto e 5-hidroxilo do anel C. (220)

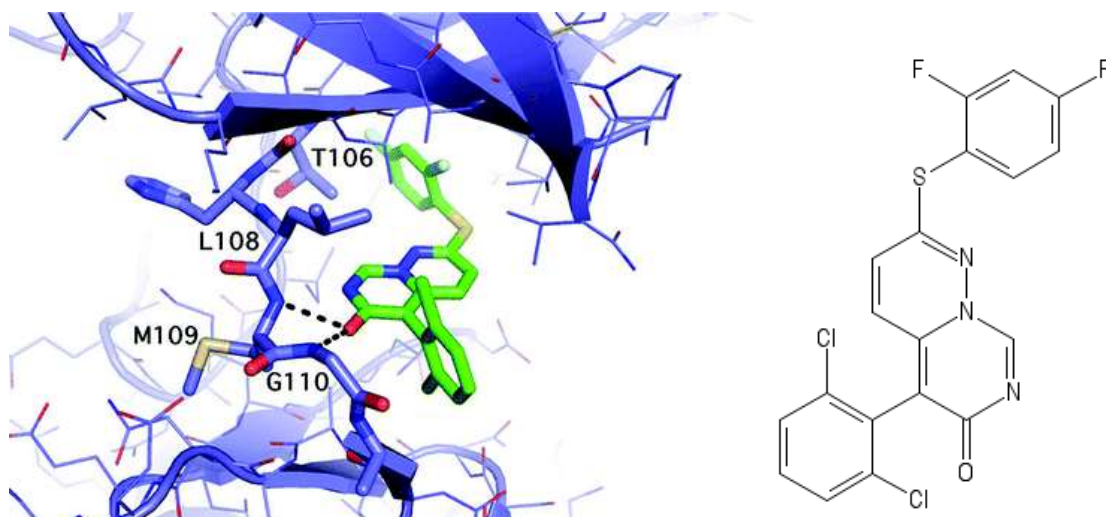
O **sargramostim** é uma forma sintética do fator estimulante das colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) que estimula o sistema imunitário inato. Na DA poderá aumentar a fagocitose das proteínas patogénicas através de macrófagos derivados da medula óssea ou da microglia, entre outros. (223) Encontra-se em fase II.

A **neuro-EPO** é uma formulação intranasal de eritropoietina recombinante com baixo nível de sialilação. A eritropoietina e o seu recetor encontram-se aumentados no SNC em situações de hipoxia, isquémia, excitotoxicidade, stress oxidativo e neurodegeneração uma vez que estes danos promovem a ativação de fatores de transcrição para os mesmos. A neuro-EPO diminui os níveis de citocinas pró-inflamatórias, previne a peroxidação e a produção de ROS, e inibe vias apoptóticas. (224,225) A administração nasal permite evitar os efeitos secundários associados à sua atividade eritropoiética (tromboembolismo, hipertensão, progressão tumoral, convulsões). (225–227) Encontra-se em fase II/III.

O **GC 021109** liga-se ao recetor microglial P2Y<sub>6</sub>, estimulando a fagocitose e inibindo a libertação de citocinas pró-inflamatórias. Está em fase I. (52,223)



**Neflamapimod** inibe a proteína quinase  $\alpha$  ativada pelo mitógeno p38 (p38 MAPK  $\alpha$ ) (228), diminuindo a ativação da microglia, da libertação de TNF- $\alpha$  e de IL-1 $\beta$ , e a hiperfosforilação da tau. (19) Em fase II, na qual ainda se encontra, melhorou significativamente a memória episódica e a aprendizagem e reduziu a carga de placas amiloides. Foi bem tolerado. (229)



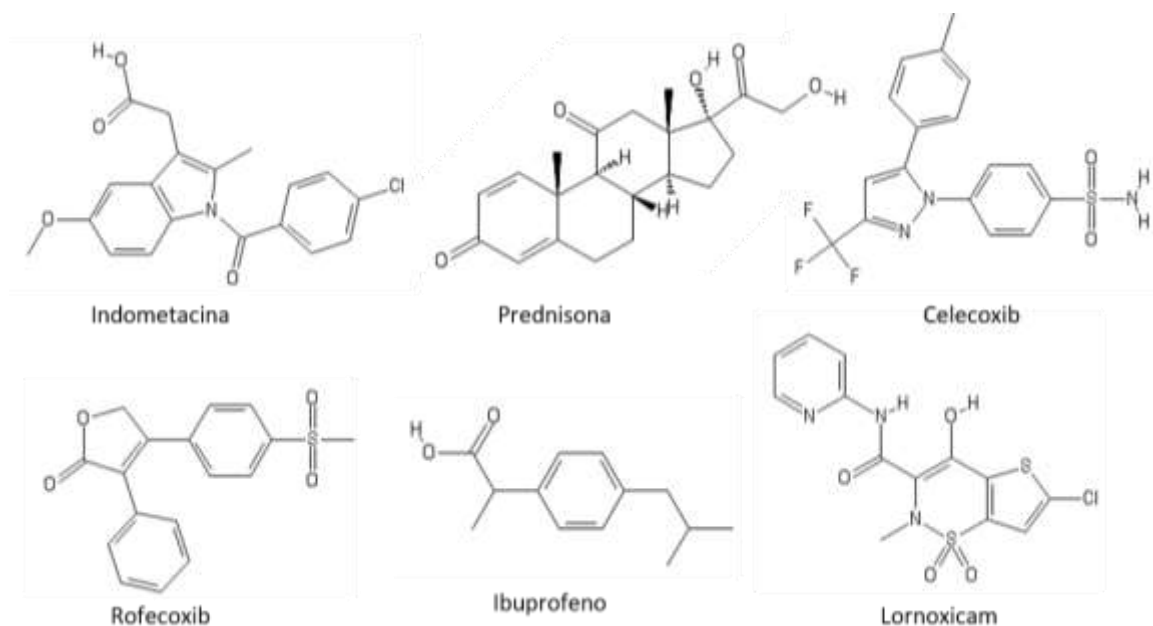
**Figura 2.5 – Esquema das interações entre o neflamapimod e a p38 MAPK  $\alpha$ .** Cada átomo de cloro ocupa um *pocket* hidrofóbico, contactando com os resíduos Val30, Leu108 Ala157 e Leu167, enquanto o anel fenílico em si estabelece interações de van der Waals com os resíduos Gly110, Ala111 e Asp112. O anel 2,4-difluorofenil ocupa um *pocket* hidrofóbico no resíduo Thr106, o resíduo *gatekeeper*, e estabelece muitas interações de van der Waals. A enzima facilita a ligação do inibidor ao alterar a conformação da Gly110 e permite que o oxigénio carbonílico forme uma ligação de hidrogénio com esta. Retirado de Duffy et al, 2011. (228)




**Tabela 2.11 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da neuroinflamação**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Naproxeno</b>		-	Fase III  Participou num ensaio de prevenção de fase III (ensaio ADAPT - <i>Alzheimer's Disease Anti-inflammatory Prevention Trial</i> ), tal como o celecoxib. Este foi terminado precocemente por preocupações de segurança, nomeadamente ao nível cardiovascular. (197,230) Os resultados foram negativos. (197) Um ensaio de fase II/III para avaliação da influência do naproxeno (e do rofecoxib) na DA ligeira a moderada (estudo NSAID) também teve resultados negativos. (52,197,231) Atualmente encontra-se num ensaio preventivo de fase II em indivíduos cognitivamente intactos que apresentam risco de desenvolver DA por apresentarem história familiar da doença. Este terminará em 2019. (52)

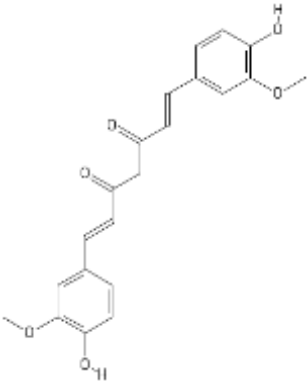
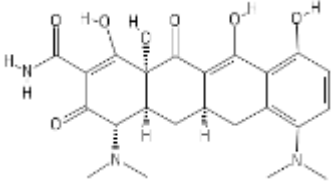
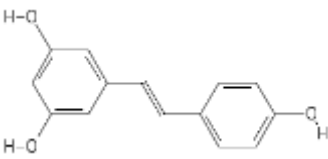
**Tabela 2.11 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da neuroinflamação**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<p>Outros anti-inflamatórios, comercializados como tal, anteriormente estudados em ensaios clínicos: <b>indometacina</b>, <b>prednisona</b>, <b>celecoxib</b>, <b>rofecoxib</b>, <b>ibuprofeno</b>, <b>R-flurbiprofeno</b> (ver Tabela 2.3), <b>lornoxícam</b>.</p> <p>Outros anti-inflamatórios, avaliados em estudos clínicos não presentes nas plataformas clinicaltrials.com e Clinical Trials Search Portal (<a href="http://apps.who.int/trialsearch/">http://apps.who.int/trialsearch/</a>), e cujos resultados também foram negativos: diclofenac, nimesulida, dapsona, hidroxicloroquina, triflusal.</p>			

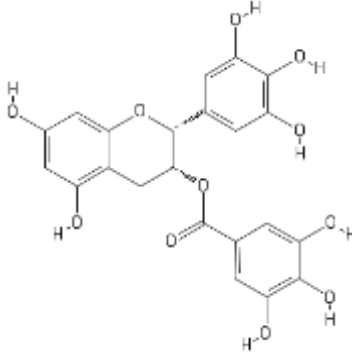
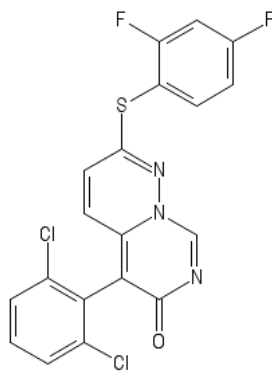


<p><b>Ácido lipoico + óleo de peixe (ácidos gordos ómega-3)</b></p>	 <b>Ácido lipoico</b>	<p>Jan 2003</p> <p>Fase III</p>	<p>Encontra-se ativo um ensaio de fase II, apenas com óleo de peixe, para avaliar a eficácia na saúde mental em indivíduos em risco de desenvolver declínio cognitivo e demência do tipo DA, e um de fase II/III, com ácido docosahexaenoico, para avaliar a entrada deste no cérebro de indivíduos saudáveis. Ambos a decorrer até 2019. (52)</p>
	 <b>Ácido docosahexaenoico</b>		
	 <b>Ácido eicosapentaenoico</b>		

**Tabela 2.11 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da neuroinflamação**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Curcumina</b>		Jul 2003	Fase II  Os ensaios em que tem sido avaliada não têm sido bem-sucedidos. Possíveis razões são a baixa biodisponibilidade e o estadios já avançado da doença nos participantes. (206) Atualmente num ensaio de fase II sobre os efeitos da curcumina e do yoga em veteranos em risco de desenvolver DA. (52)
<b>Etanercept</b>		Set 2004	Fase II  Aprovado para o tratamento de várias doenças autoimunes como artrite reumatoide, psoríase e espondilite anquilosante. (207) Dois ensaios piloto na DA ligeira a severa obtiveram resultados positivos, mas estes devem ser analisados com cuidado uma vez que a amostra era reduzida. (52,209,210) Num ensaio de fase II, os resultados foram negativos. A amostra também era reduzida. (52,211)
<b>HF0220; Hunter-Fleming</b>		Jul 2006	X  Participou num ensaio de fase II em DA ligeira a moderada. (52) Sem resultados divulgados.
<b>Minociclina</b>		-	Fase II  Participou num estudo de fase II com o intuito de avaliar o tratamento de indivíduos com DCL e alguns marcadores de diagnóstico associados. (52) Outro ensaio de fase II (ensaio MADE) está a decorrer até 2018 para avaliar a eficácia na DA. (58)
<b>Resveratrol</b>		Jan 2008	Fase III  Um suplemento alimentar de resveratrol foi estudado em ensaio de fase III para avaliar a capacidade de diminuição da progressão da DA. Várias intervenções dietéticas foram avaliadas num ensaio de fase IV quanto à capacidade para melhorar as funções cognitivas no DCL, entre elas a administração de resveratrol. Não foram divulgados os resultados dos ensaios. Atualmente encontra-se um ensaio de fase I a decorrer, até 2018, para estudar o efeito de um extrato polifenólico de sementes de uvas, que contém resveratrol, no tratamento do DCL. (52)

**Tabela 2.11 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da neuroinflamação**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Epigallocatequina-3-galato (EGCG)</b>		Out 2009	Fase II/III  Terminou em 2015, um ensaio de fase II/III em doentes em estadio precoce de DA (ensaio SUN-AK) e um ensaio de fase II em indivíduos com Síndrome de Down e DA para avaliar os efeitos desta molécula na progressão e nos biomarcadores da última. (52) Sem ensaio ativos atualmente.
<b>Sargramostim</b>		Mar 2011	Fase II  Aprovado pela FDA para aumento dos níveis de neutrófilos, monócitos e macrófagos após transplante de medula ou durante o tratamento de leucemias. (232) Está a decorrer um ensaio de fase II na DA até dezembro de 2017. (52)
<b>Neuro-EPO (formulação intranasal de eritropoietina)</b>		Jun 2013	Fase II/III  Participou em ensaio de fase I para avaliar a segurança do tratamento em indivíduos saudáveis. Foi iniciado em maio do presente ano, 2017, um ensaio de fase II/III (ensaio ATHENEA) em DA ligeira a moderada que se encontra a decorrer. (172)
<b>GC 021109; GliaCure</b>		Set 2014	Fase I  Foi realizado um ensaio para avaliar a segurança, tolerabilidade e farmacocinética em indivíduos saudáveis e um outro em DA ligeira a moderada. (52)
<b>Neflamapimod (VX-745); EIP Pharma</b>		Abr 2015	Fase II  Participou em dois ensaios de fase II. Um avaliou a farmacologia e farmacocinética da molécula em indivíduos com DCL devido a DA ou com DA ligeira. O outro avaliou os efeitos na carga das placas $\beta$ A. (52,229) Sem ensaio ativos atualmente.

## 2.4 Stress oxidativo como alvo terapêutico

A interação do RAGE com a  $\beta$ A e com produtos finais da glicação avançada promove a libertação de ROS e de citocinas pró-inflamatórias. Este recetor potencia ainda a atividade da  $\beta$ - e/ou  $\gamma$ -secretase e a hiperfosforilação da tau. (47) **Azeliragon** é um antagonista do sRAGE, a forma solúvel do recetor. (233) Encontra-se em fase III e em ensaios anteriores mostrou-se seguro, bem tolerado (234) e capaz de diminuir a progressão da doença (235,236). Alguns antagonistas dos canais de cálcio do tipo L, nomeadamente a **nilvadipina**, mostraram diminuir os níveis de  $\beta$ A. Esta diminuição não parece estar relacionada com o efeito anti-hipertensor mas sim com a inibição indireta da  $\beta$ -secretase e do RAGE através da inibição da transcrição dependente do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). (237,238) Mostrou-se segura e bem tolerada, não reduzindo a pressão arterial em não hipertensos. (239,240) O último ensaio realizado foi de fase III.

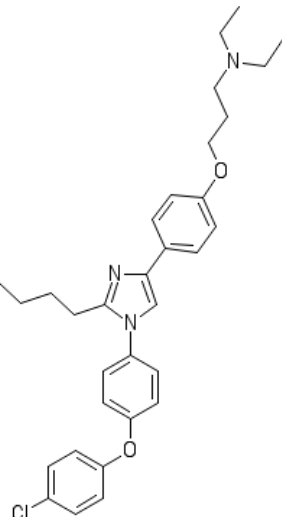
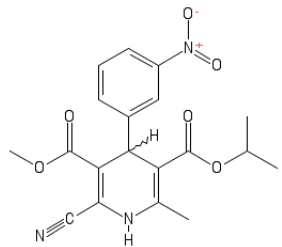
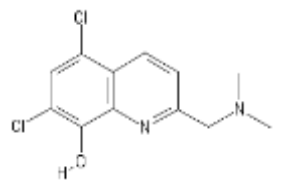
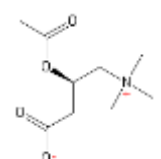
Metais de transição, como o **zinco**, o **cobre**, e o **ferro**, promovem a oligomerização e agregação da  $\beta$ A e são reduzidos pela mesma, aumentando a produção de ROS. (25,26) Podem ainda aumentar a hiperfosforilação e/ou agregação da tau, aumentar a expressão da APP e consequente produção de  $\beta$ A, e diminuir os níveis de metalotionina 3, uma ubiquitina com atividade antioxidante que inibe a agregação mediada pelo cobre, e que promove a via não amiloidogénica do processamento da APP. (26) Aparentemente, a apoE previne a agregação mediada pelo cobre. (25) O **PBT2** é atenuante da ligação metal-proteína. Não é um quelante, em vez disso liga-se ao cobre e zinco, e facilita a interrupção das ligações entre estes e proteínas-alvo no cérebro. Isto é importante uma vez que não é uma elevada concentração destes metais no organismo que está implícita na DA, mas sim uma deficiência nos mecanismos de regulação: com o progredir da idade, há tendência para uma diminuição dos níveis destes no organismo, mas a verdade é que em certas zonas do cérebro isso não acontece. (25,26,241) Este composto poderá diminuir a conversão dos agregados  $\beta$ A em oligómeros, que são mais tóxicos, e reestabelecer os níveis intracelulares destes metais uma vez que também é ionóforo e promove o uptake celular dos metais que ficam livres. Este aumento intracelular pode ativar metaloproteases responsáveis pela degradação da  $\beta$ A. (25,241,242) Aparenta ser seguro e bem tolerado, mas, apesar de ter reduzido de forma estatisticamente significativa os níveis de  $\beta$ A e melhorado a função cognitiva executiva num primeiro ensaio de fase II, o mesmo não aconteceu com o segundo. (242)

Como referido no subtítulo anterior, a **minociclina**, o **epigallocatechin-3-gallate**, o **ácido lipoico + óleo de peixe**, a **curcumina**, e o **resveratrol** apresentam atividade antioxidante. O EGCG é ainda quelante de metais.

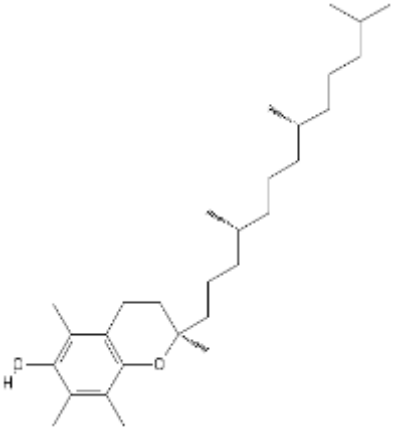
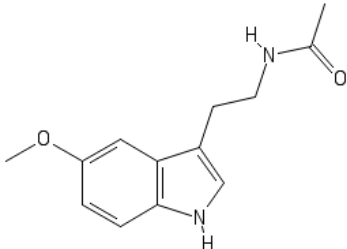
A **acetil-L-carnitina** atua como antioxidante, agonista mitocondrial, fator de crescimento neural, promotor da libertação de acetilcolina e estabilizador das membranas. É

seguro. Uma meta-análise concluiu que pode melhorar o estado clínico global, mas que não há evidência de que venha a ser uma terapêutica relevante. (243) Apesar disto encontra-se em fase IV.

**Tabela 2.12 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do stress oxidativo**

Nome; empresa	Estruturas	1ºen- saio	Fase atual
<b>Antagonista RAGE</b>			
<b>Azeliragon (PF-04494700; Pfizer</b>		Out 2005	Fase III  Em dois ensaios de fase III em DA ligeira: ensaio STEADFAST, até 2019, e uma extensão de dois anos deste. (52) Um ensaio de fase II em DA ligeira a moderada foi prematuramente interrompido quando uma análise pré-especificada avaliou o tratamento como supérfluo, no entanto, uma análise posterior mostrou que o mesmo reduziu a progressão da doença. (235,236)
<b>Nilvadipina; St. James's Hospital, Ireland</b>		Jan 2006	Fase III  Aprovada nos EUA e UE para o tratamento da hipertensão. Um ensaio de fase III (ensaio NILVAD) decorreu na Europa até dezembro de 2016 em DA ligeira a moderada. (52,172,239)
<b>Atenuador da ligação metal-proteína</b>			
<b>PBT2; Prana Biotechnolo- gy</b>		Jun 2006	Fase II  Já esteve envolvido em 3 ensaios de fase II para avaliar a segurança, tolerabilidade e eficácia. Um dos ensaios foi em DA prodrômica, outro em DA prodrômica ou ligeira (ensaio IMAGINE), e o último, terminado em 2014, foi uma extensão deste. (172,242,244) Sem ensaios ativos atualmente.
<b>Antioxidantes</b>			
<b>Acetil-L- carnitina</b>		-	Fase IV  Em fase IV, pela empresa Dong-A ST, para avaliar a eficácia em DA. (52)

**Tabela 2.12 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do stress oxidativo**

Nome; empresa	Estruturas	1ºen- saio	Fase atual
<b>Antioxidantes (continuação)</b>			
<b>Vitamina E (Tocoferol)</b>		-	X
<b>Melatonina de libertação prolongada; Neurim Pharmaceuti- cals</b>		Set 2009	X
<b>Antagonistas dos canais de cálcio</b>			
<b>MEM 1003; Memory Pharmaceuti- cals</b>		Nov 2005	X
		Em ensaio de fase II foi avaliado no tratamento de DA ligeira a moderada. (52) Não foi efetivo. (249)	

## 2.5 Vias de sinalização da insulina como alvo terapêutico

As vias de sinalização associadas ao recetor de insulina/do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) encontram-se diminuídas na DA, tal como a expressão do próprio recetor na superfície celular. (250–252) Esta diminuição, possivelmente mediada pelos oligómeros  $\beta A$  (251,253,254): interfere com a depressão sináptica de longa duração; contribui para a excitotoxicidade mediada pelos NMDARs; promove a agregação dos oligómeros (251,255); leva a hiperfosforilação da tau por aumento da ativação da GSK-3 e por diminuição dos níveis de O-GlcNAcilação (252,256,257), este último ocorrendo por diminuição dos transportadores de glucose e consequente diminuição deste açúcar (254,257). A potenciação deste recetor, para além de inibir estes acontecimentos, promove a degradação de  $\beta A$  ao regular a expressão da enzima de degradação de insulina (IDE), uma metaloprotease que também cataboliza a  $\beta A$ . O IGF-1 aumenta a clearance da  $\beta A$  por aumentar a quantidade de proteínas transportadoras de  $\beta A$  que alcança o cérebro (ex. albumina e a transferrina). (254)

Agonistas do recetor ativado pelo proliferador de peroxissoma  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) aumentam a sensibilidade à insulina, entre outras ações, através da transcrição de genes, sendo reguladores centrais do metabolismo da glucose e lípidos. Como exemplo temos as tiazolidinedionas usadas como antidiabéticos orais (258,259), nomeadamente a **pioglitazona** (252), que se mostrou segura (260) e que se encontra em fase III. O **T3D-959**, para além de inibir o PPAR $\gamma$ , inibe também o PPAR $\sigma$  (alvo primário), ambos regulam os metabolismos referidos anteriormente, mas apresentam ações ligeiramente diferentes. Em ensaios de fase I/II mostrou ter potencial para se prosseguirem os estudos. (261,262)

Outra classe de antidiabéticos orais em estudo na DA são os incretinomiméticos, agonistas do recetor IGF-1. O **exenatido** terminou recentemente um ensaio de fase II. (52) Os resultados não são conhecidos. O **liraglutido** está em fase II e já mostrou eficácia em prevenir o declínio do metabolismo da glucose, não tendo mostrado ainda eficácia no declínio cognitivo. (263)

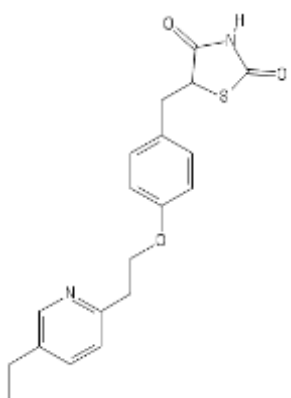
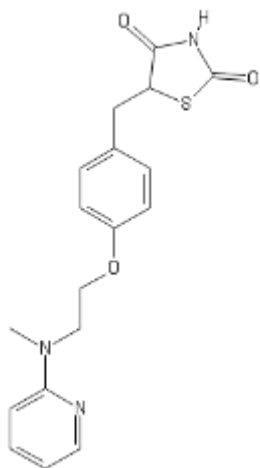
A **metformina** é uma biguanida, também comercializada como antidiabético oral, que aumenta a sensibilidade à insulina e consequente utilização periférica da glucose. (264) Está em fase II. Apesar disso, um estudo observacional em doentes com diabetes *mellitus* tipo II concluiu que a sua utilização estava relacionada com um maior risco de desenvolver demência e doença de Parkinson. (265)

Outra terapêutica em investigação é a **insulina intranasal**. Esta aumenta os níveis de insulina no SNC e melhora a memória declarativa na DA. (266–269) Outros possíveis efeitos são a melhoria do humor e da autoconfiança (267), e manutenção das habilidades funcionais e da cognição em geral. (270) Este efeito aparenta ocorrer apenas em não portadores do alelo ApoE- $\epsilon 4$ . Esta diferença pode dever-se a uma maior resistência à insulina por parte

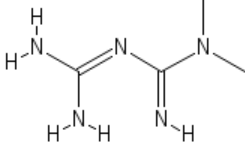


deste grupo. (251,266,271) Alguns estudos verificaram também diferenças consoante o género. (251,271) Não são verificados efeitos sistémicos como hipoglicémia uma vez que a insulina passa diretamente para o líquido cefalorraquidiano. (267,270) Está em fase II/III.

**Tabela 2.13 - Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível das vias da insulina**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual	
<b>Agonistas PPAR<math>\gamma</math></b>				
<b>Pioglitazona; Takeda</b>		Jan 2002	Fase III	Encontra-se em dois ensaios de fase III no défice cognitivo ligeiro associado à DA, um até 2019 e a respetiva extensão até 2021. (52) Estes pretendem avaliar a eficácia, ainda não avaliada em estudos anteriores. (260).
<b>Rosiglitazona; GlaxoSmithKline</b>		Mai 2004	X	Aprovada nos EUA como antidiabético oral. (272,273) Em ensaios de fase II apresentou resultados positivos em não portadores do alelo Apo $\epsilon$ 4. (274,275) No entanto, em ensaios de fase III não se mostrou eficaz quer em monoterapia, quer coadministrada com IACHES. (275,276)
<b>T3D-959; T3D Therapeutics</b>		Jul 2015	Fase I/II	Ensaio de fase I/II em DA ligeira a moderada terminado em janeiro de 2017. (52) Sem ensaios atualmente ativos.
<b>Incretinomiméticos</b>				
<b>Exenatido</b>		Nov 2010	Fase II	Terminou em novembro de 2016 um ensaio piloto na DA. (52) Sem ensaios ativos atualmente.
<b>Liraglutido</b>		Jan 2012	Fase II	Participou num ensaio para identificar possíveis efeitos em alterações degenerativas. Em ensaio de fase II na DA ligeira até 2019. (52)

**Tabela 2.13 (continuação) - Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível das vias da insulina**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual	
<b>Outros</b>				
<b>Metformina</b>		Fev 2008	Fase II	Participou num ensaio para prevenção da DA. Terminou em abril de 2017 um ensaio para avaliar a sua influência nos biomarcadores cognitivos, fisiológicos e químicos do DCL e da demência devida a DA. (52) Sem ensaios ativos atualmente.
<b>Insulina intranasal</b>		Jun 2006	Fase II/III	Tipos de insulina já estudados: insulinas de ação curta como a aspártico, a glulisina (277), e a regular; de ação intermédia como a regular+isofânica; e de ação prolongada como a determir (277,278). (52) Inúmeros ensaios, principalmente de fase II, já foram realizados. Atualmente há 3 ensaios ativos: um de fase II, com insulina glulisina em DCL amnésico e provável DA ligeira, até setembro de 2017; um de fase II/III, com insulina regular+isofânica também em DCL amnésico e DA ligeira, até 2018; e um de fase I, com insulina aspártico em DA e DCL, a decorrer até 2019. (52)

## 2.6 Metabolismo do colesterol como alvo terapêutico

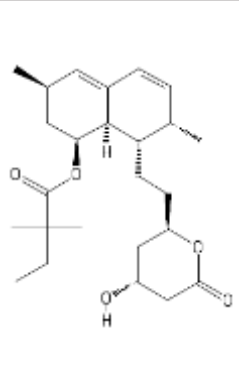
Elevados níveis de colesterol podem provocar danos nos vasos sanguíneos cerebrais, alterações da permeabilidade da BHE, disfunção sináptica por variação do conteúdo em colesterol das membranas neuronais, aumento dos níveis de  $\beta A$ . (279) Níveis aumentados de colesterol podem estar envolvidos no aumento da atividade da  $\beta$ -secretase (4,11,279), no favorecimento do processamento proteolítico pela APP, no aumento da apoE que promove a oligomerização da  $\beta A$ , e no aumento da apolipoproteína J que se liga à  $\beta A$  e impede a sua degradação. (279)

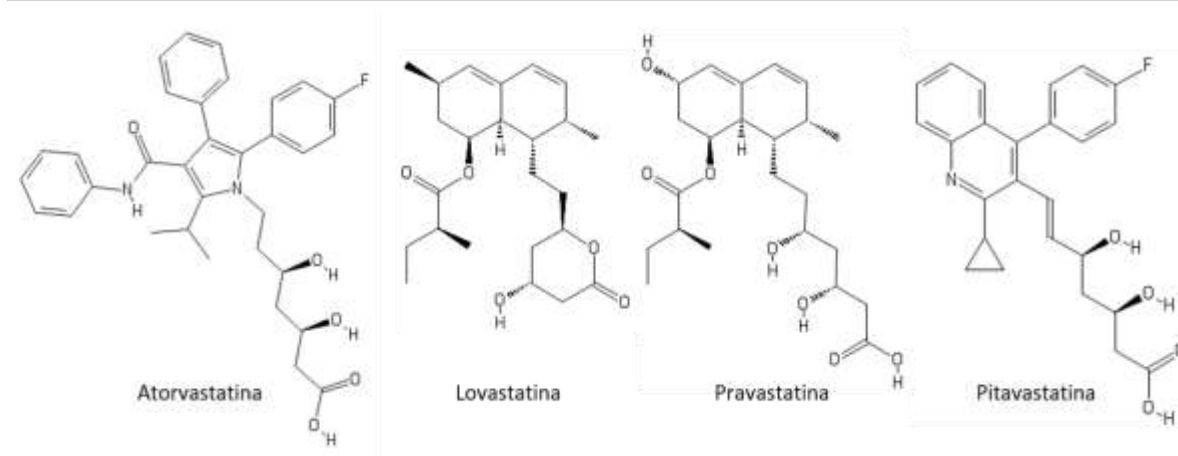
A apoE tem também um efeito benéfico ao facilitar a clearance extracelular das formas solúveis, pela IDE, e a intracelular, na microglia, pela neprilisina. (280) No entanto, a isoforma apoE4 liga-se à  $\beta A$  com maior afinidade e impede a sua clearance através da BHE pelo recetor LRP-1. Esta isoforma é produzida pelos neurónios em condições de stress celular e, por um mecanismo desconhecido, origina um fragmento tóxico que parece causar disfunção mitocondrial e hiperfosforilação da tau. (279)

As estatinas, inibidores da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase, possuem efeitos ao nível do colesterol (diminuição do LDL, aumento dos recetores deste, diminuição dos triglicéridos e aumento do HDL), na melhoria da perfusão sanguínea do

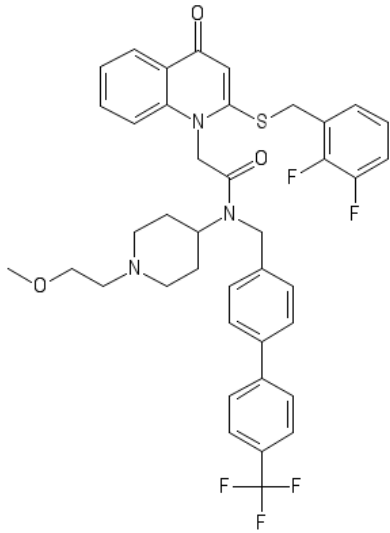
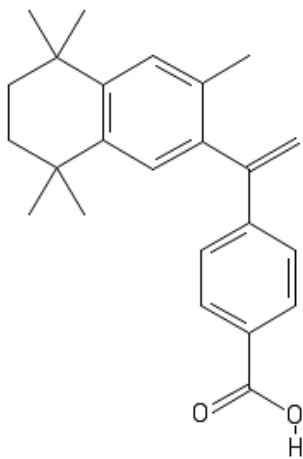
cérebro (aumento da produção de vasodilatadores, diminuição da produção de vasoconstritores), e têm efeito antitrombótico e anti-inflamatório. (281) A sinvastatina, atorvastatina, pravastatina, lovastatina, pitavastatina, comercializadas para o tratamento de dislipidemias, já participaram em inúmeros ensaios clínicos. (52) Os resultados destes são muito variados o que leva a meta-análises e revisões sistemáticas com conclusões completamente diferentes. (281) A realidade é que atualmente apenas a **sinvastatina** continua em estudo, nomeadamente em fase IV.

**Tabela 2.14 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível das vias do colesterol**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
Antidislipídemicos			
<b>Sinvastatina</b>		-	Fase IV  Estão ativos dois ensaios: um ensaio preventivo (ensaio SHARP), de fase II, a decorrer até setembro do presente ano, 2017, para avaliar os efeitos da estatina na $\beta$ A e na perfusão cerebral, em indivíduos em risco de desenvolver DA; e um ensaio de fase II, a decorrer até dezembro, para avaliar a eficácia da terapêutica sinvastatina+L-arginina+tetrahidrobiopterina no fluxo sanguíneo cerebral e na função cerebral em DA ligeira. Encontra-se ainda em fase IV para o DCL amnésico. (52)
Outras estatinas já estudadas em ensaios clínicos: <b>atorvastatina, pravastatina, lovastatina, pitavastatina.</b>			



**Tabela 2.14 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível das vias do colesterol**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Inibidor da fosfolipase A2 associada à lipoproteína (Lp-PLA2)</b>			
<b>Rilapladib (SB-659032); GlaxoSmithKline</b>		Out 2011	X
<b>Agonista RXR</b>			
<b>Bexaroteno</b>		Fev 2013	X
Moléculas que não passaram de ensaios de fase I: <b>GSK2647544</b> (GlaxoSmithKline)			

Níveis aumentados de Lp-PLA2 podem levar a dano vascular, nomeadamente no cérebro. (282) Participou em ensaio de fase II para avaliar o seu efeito em biomarcadores relacionados com a patogénese e progressão da DA. (52)

Aprovado para o tratamento de manifestações cutâneas de linfoma cutâneo das células T. (283,284) É um agonista do recetor de retinoide X (RXR) que, ao facilitar a sua dimerização com o PPRAγ ou com o recetor hepático X (LXR - *liver X receptor*), promove a sua ativação. Este recetor nuclear aumenta a transcrição da apoE que promove a clearance da βA. (285) Esteve em ensaios de fase I para avaliar os seus efeitos no metabolismo da βA e apoE em indivíduos saudáveis; e de fase II (ensaio BEAT-AD) na DA ligeira a moderada. (52) Este último terminou em 2014, não teve resultados positivos e apresentou algumas preocupações em termos de segurança, aumentando os níveis de triglicéridos. (286,287)

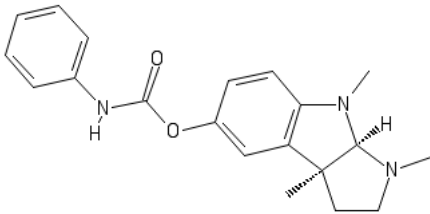
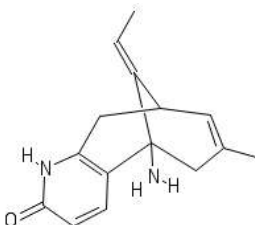
## 2.7 Neurotransmissores como alvo terapêutico

### 2.7.1 Sistema colinérgico

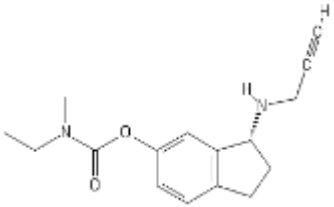
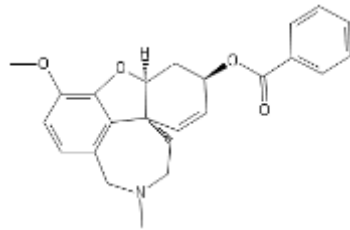
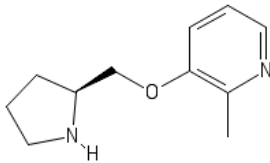
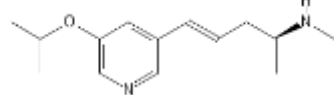
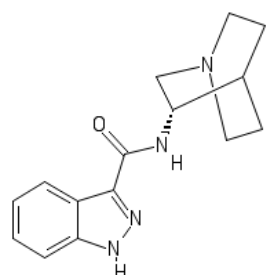
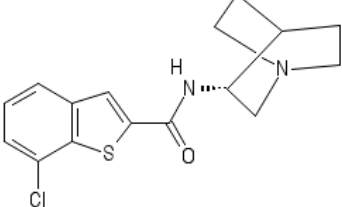
São dois os IAChEs em desenvolvimento. **Huperzina A**, aprovado, em 1994, para o tratamento da DA na China, aumenta também a expressão de neurotrofinas e de sAPP $\alpha$ , e reduz a neuroinflamação. (288) Outros possíveis mecanismos são a diminuição da disfunção mitocondrial e a diminuição dos níveis de ferro no cérebro. (288–290) Segundo uma revisão sistemática e meta-análise, aparenta ter efeitos benéficos na DA. (291) Está em fase IV. O **Memogain®** é um pró-fármaco da galantamina administrado por via intranasal. É ativado por carboxiesterases e atinge concentrações e uma razão cérebro-sangue superiores à galantamina, sendo mais eficaz e apresentando menos efeitos secundários periféricos, nomeadamente efeitos gastrointestinais limitativos de dose. (45,292,293) Em ensaios de fase I mostrou ser bem tolerado. (294)

Quanto aos fármacos a atuar nos recetores muscarínicos, o **ANAVEX 2-73** é um potente agonista M1, apresentando também atividade para M2-M4, e moderado, mas seletivo, agonista  $\sigma$ 1. (295) Em fase II, em DA ligeira a moderada, foi seguro e bem tolerado (296) e promoveu uma melhoria da função psicomotora, atenção, e memória de trabalho. (297) Ensaio de fase III encontra-se em planeamento segundo a pipeline da empresa. (298) Encontra-se também em desenvolvimento o ANAVEX PLUS, uma combinação do ANAVEX 2-73 com o donepezilo. (299)

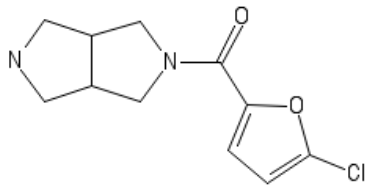
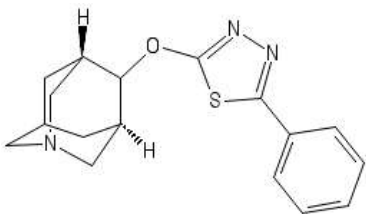
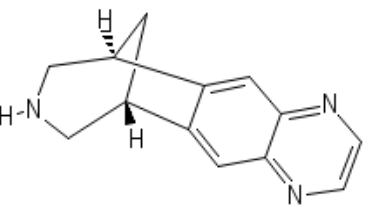
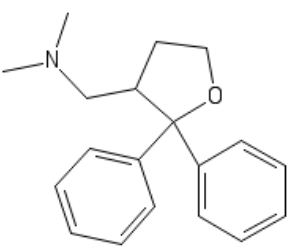
**Tabela 2.15 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema colinérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>IAChEs</b>			
<b>Fenserina (-)-fenserina); Axonyx</b>		Jan 2004	X  Inibidor pseudoirreversível não-competitivo. (300) Mostrou-se bem tolerada, mas no primeiro ensaio de fase III, em DA ligeira a moderada, não foi eficaz. (300,301)
<b>Huperzina A</b>		Abr 2004	Fase IV  Em fase IV até 2018 para avaliar a eficácia e segurança no DCL provocado por DA. Em simultâneo, pretende investigar biomarcadores para o diagnóstico precoce da doença. De 2007 a 2009 foi estudada a eficácia de um pró-fármaco desta molécula, o ZT-1. (52)

**Tabela 2.15 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema colinérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>IAChEs (continuação)</b>			
<b>Ladostigil (TV3326); Avraham Pharmaceuticals</b>		Abr 2005	X
<b>Memogain (GLN-1062); Neurodyn Life Sciences</b>		Mar 2016	Fase I
<b>Agonistas nAChR</b>			
<b>Pozaniclina (ABT-089); Abbott</b>		Jul 2003	X
<b>Isproniclina (AZD3480); AstraZeneca</b>		Jan 2005	X
<b>Faciniclina (RG3487; MEM3454); Roche</b>		Fev 2007	X
<b>Enceniclina (EVP-6124; MT- 4666); FORUM Pharmaceuticals</b>		Out 2008	X

**Tabela 2.15 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema colinérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Agonistas nAChR (continuação)</b>			
<b>AZD1446; AstraZeneca</b>		Dez 2008	X
<b>Neloniclina (ABT-126); AbbVie</b>		Mar 2009	X
<b>Vareniclina; Pfizer</b>		Jul 2009	X
<b>Agonistas mAChR</b>			
<b>Anavex 2-73; Anavex</b>		Dez 2014	Fase II
		Extensão do ensaio ANAVEX, terminado em 2016, a decorrer até 2018. (52)	

### 2.7.2 Sistema glutamatérgico

Os antagonistas NMDAR e agonistas AMPAR em desenvolvimento têm como objetivo a modulação de sintomas neuropsiquiátricos, com exceção do PXT86. **AVP-923** é uma combinação de dois fármacos: hidrobromidrato de dextrometorfano e sulfato de quinidina. O último encontra-se numa dose baixa tendo como função apenas inibir o citocromo responsável pela metabolização do dextrometorfano, aumentando a sua biodisponibilidade. É antagonista

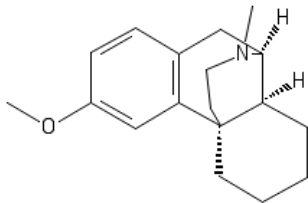
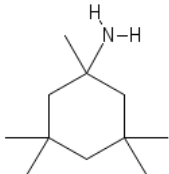

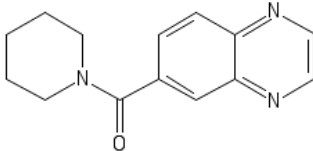
fraco e não competitivo do recetor NMDA, agonista  $\sigma 1$ , antagonista do canal de cálcio dependente de voltagem, inibidor da recaptação da serotonina e da noradrenalina, e antagonista do nAChR  $\alpha 3\beta 4$ , não se sabendo ao certo qual o mecanismo pelo qual atua. (318–320) Mostrou-se eficaz e seguro na redução da agitação na DA num estudo de fase II (321,322) e no tratamento da labilidade pseudobulbar (LPB) em fase III (323), encontrando-se aprovado para esta última, pela FDA (318,324). Está em fase IV na LPB devida a DA. O **AVP-786** foi desenvolvido com base no AVP-923. O dextrometorfano encontra-se modificado com deutério, um isótopo do hidrogénio, que permite ligações mais fortes. Esta modificação aumenta a estabilidade metabólica e o tempo de semivida, possibilitando uma redução da quantidade de quinidina. Apresenta assim um menor potencial para interações medicamentosas. (320) Encontra-se em fase III para o tratamento da agitação na DA. (52) O **PXT864** é uma combinação de dois fármacos: o acamprosato que atua como antagonista do NMDAR e o baclofeno que atua como agonista do GABA<sub>B</sub>R. (325) As suas ações regulam o balanço excitação/inibição. Segundo o website da empresa, é seguro e bem tolerado e mostrou melhorias no declínio cognitivo em combinação com o donepezilo em ensaios de fase II. Previsto o início de um novo ensaio de fase II em 2017. (326) **S47445** é um agonista alostérico seletivo do AMPAR. (327) A diminuição do limiar de dessensibilização e/ou desativação do recetor leva a uma potenciação das neurotransmissões excitatórias rápidas. (40) Está em fase II.

**BI 409306** é um inibidor da fosfodiesterase 9A (PDE9A), enzima responsável por regular os níveis do segundo mensageiro monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) nos neurónios, através da sua degradação. A ativação do NMDAR, através do aumento deste mensageiro, ativa proteína-quinases que promovem a plasticidade sináptica. (328,329) Encontra-se em ensaios de fase II. Mostrou-se seguro no geral, no entanto, foram verificadas algumas reações adversas oculares como fotopsia, fotofobia, cromatopsia e visão turva, relacionadas com a inibição da enzima. (328,330)

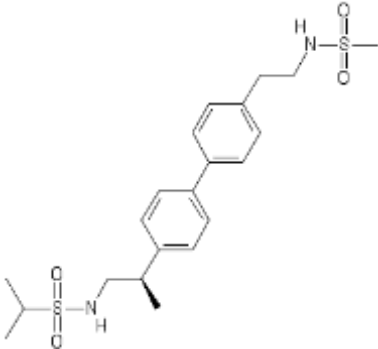
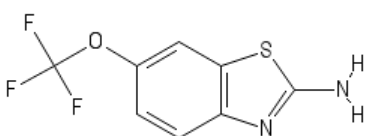
O **riluzol** inibe a libertação de glutamato, provavelmente por bloqueio dos canais de sódio dependentes de voltagem e por diminuição da fusão das vesículas com o neurotransmissor com a membrana pré-sináptica: em concentrações clínicas, não interage significativamente com nenhum dos recetores do glutamato. Aumenta também o *reuptake* deste neurotransmissor pela microglia. O seu mecanismo de ação é complexo, encontrando-se pouco elucidado. (331,332) Está em fase II no primeiro ensaio clínico dirigido à DA. (52)



**Tabela 2.16 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema glutamatérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual	
<b>Antagonistas NMDAR</b>				
<b>AVP-923</b> (dextrometorfano + quinidina); Avanir Pharmaceuticals		Fev 2003	Fase IV	Em ensaio de fase IV para o tratamento sintomático da labilidade pseudobulbar (LPB) em indivíduos com DA até setembro de 2017. Foi realizado um estudo anterior, de fase II, para avaliar a eficácia e segurança no tratamento da agitação na DA. (52)
<b>Neramexano</b> (MRZ 2/579); Forest Laboratories		Mar 2003	X	Participou num ensaio de fase III em DA moderada a severa que não mostrou resultados significativos. (52,333) Atua também no nAChR $\alpha 9\alpha 10$ , inibindo-o. (326)
<b>AVP-786;</b> Avanir Pharmaceuticals		Out 2012	Fase III	Em ensaios de fase III para a agitação em doentes com demência do tipo Alzheimer, um até 2018, outro até 2019 e a extensão destes até 2021. (52)
<b>Antagonista NMDAR + Agonista GABA<sub>B</sub>R</b>				
<b>PXT864</b> (PXT00864); Pharnext		Fev 2013	Fase II	Dois ensaios de fase II terminados em 2015 (PLEODIAL-I e a sua extensão PLEODIAL-II) em DA ligeira. (52) Sem ensaios ativos atualmente.
<b>Agonistas AMPAR</b>				
<b>CX516 (Ampalex);</b> Cortex Pharmaceuticals		Dez 1996	X	Participou em ensaios de fase II na DA e no DC. (52) Mostrou-se ineficaz. (334)

**Tabela 2.16 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema glutamatérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Agonistas AMPAR (continuação)</b>			
<b>LY451395 (Mibampator); Eli Lilly</b>		Nov 2002	X  Foi avaliado em fase II para o tratamento da agitação e agressão na DA. (52) Mostrou-se ineficaz. (40)
<b>S47445 (CX1632); Servier</b>		Fev 2015	Fase II  Ensaio de fase II para a DA ligeira a moderada com sintomas depressivos a terminar em dezembro de 2017; após o fim do estudo há um período de extensão opcional do mesmo em que há coadministração com donepezilo. (52)
<b>Inibidor da fosfodiesterase 9A</b>			
<b>PF-04447943; Pfizer</b>		Ago 2008	X  Foi avaliado em fase II em DA ligeira a moderada. Os resultados foram negativos. (52,335)
<b>BI 409306; Boehringer Ingelheim</b>		Abr 2011	Fase II  Ensaio de fase II ativos: estudo da eficácia, segurança, e tolerabilidade em DA e, um estudo com o mesmo fim, mas em indivíduos com declínio cognitivo devido a DA. Ambos com data de fim prevista para outubro de 2017. (52)
<b>Outros</b>			
<b>Riluzol</b>		-	Fase II  Aprovado na esclerose lateral amiotrófica pela FDA e EMA. Está a decorrer até 2018 um ensaio de fase II, em DA ligeira, para avaliar possíveis alterações da função cognitiva e de alguns biomarcadores. (52)

## 2.7.3 Sistemas monoaminérgicos

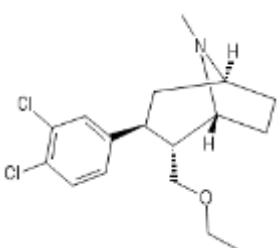
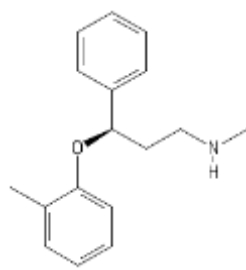
### 2.7.3.1 Sistema adrenérgico

Na DA há uma redução dos níveis de noradrenalina, de algumas das enzimas envolvidas na sua síntese, e ainda da ligação desta aos recetores adrenérgicos (AR)  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ , em áreas específicas do cérebro. (336)

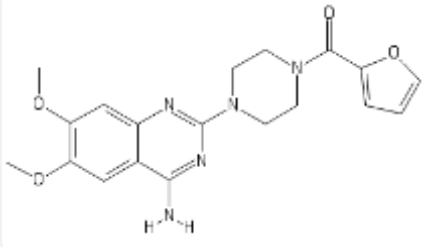
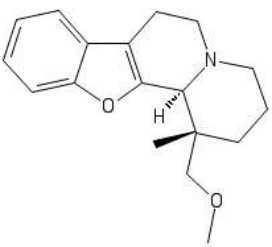
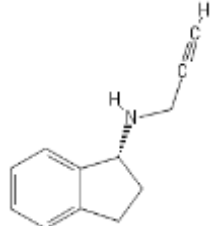
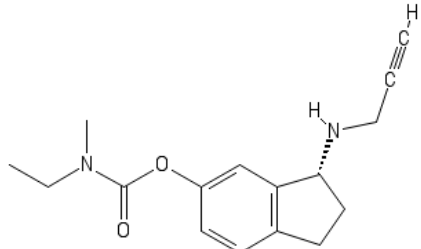
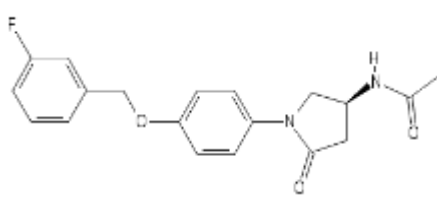
A **prazosina** é um antagonista  $\alpha_1$ , utilizado para a hipertensão e hiperplasia benigna da próstata. Mostrou ser bem tolerado, seguro e capaz de melhorar a agitação e agressão na DA. (337) Está em fase II e um novo estudo (peaceAD) está a ser preparado. (338) O **ORM-12741** é um antagonista seletivo e potente do  $\alpha_{2c}$ . (339) Avaliado em fase II, em doentes com DA e sintomatologia neuropsiquiátria em terapêutica com IAChEs, levou a uma melhoria estatisticamente significativa na memória episódica e na carga do cuidador e apresentou boa segurança e tolerabilidade. (339) Permanece em fase II.

Fármacos que atuam na monoaminoxidase B (MAO-B), enzima que participa no metabolismo de algumas monoaminas como a norepinefrina e a dopamina, também estão em estudos. Na DA há um aumento desse catabolismo que leva à produção de ROS. A inibição da enzima permite normalizar os níveis desta monoamina, diminuir a formação de ROS e a neuroinflamação. (340,341) A **rasalagina** encontra-se em fase II.

**Tabela 2.17 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema adrenérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual	
<b>Inibidores da recaptção de noradrenalina</b>				
<b>Tesofensina (NS2330); Boehringer Ingelheim</b>		Fev 2003	X	Participou num ensaio de fase II em DA ligeira a moderada. Os resultados foram negativos. (342)
<b>Atomoxetina</b>		Out 2003	X	Aprovado para o tratamento de défices de atenção e hiperatividade. Avaliado num ensaio de fase II/III em DA em coterapia com IAChEs, foi bem tolerado, mas não melhorou significativamente a cognição. (52,343) Está a decorrer até dezembro de 2017 um ensaio de fase II em DCL. (52)

**Tabela 2.17 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema adrenérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>Antagonistas AR</b>			
<b>Prazosina</b>		Jan 2001	Fase II
<b>ORM-12741; Orion</b>		Jul 2008	Fase II  Está a decorrer até dezembro de 2017 um ensaio de fase II para avaliar a eficácia nos sintomas de agitação/agressão na DA (52), havendo estudos do seu possível benefício com antipsicótico. (339,344)
<b>Inibidores da MAO</b>			
<b>Rasagilina</b>		Ago 2004	Fase II  Inibidor da MAO-B. Em ensaio de fase II para avaliar o seu efeito na DA ligeira a moderada até 2019. (52)
<b>Ladostigil</b>		Abr 2005	X  Ver Tabela 2.15
<b>Sembragilina (RG1577; RO4602522); Roche</b>		Jun 2012	X  Inibidor da MAO-B. Decorreu um ensaio de fase II (MAYfLower RoAD) para avaliar a segurança e eficácia em indivíduos com DA moderada a fazer IAChEs em associação ou não com memantina. (52,345) Foi seguro e bem tolerado, mas não se mostrou eficaz, tendo apenas demonstrado algum efeito benéfico nos sintomas neuropsiquiátricos no subgrupo mais incapacitado. (345)

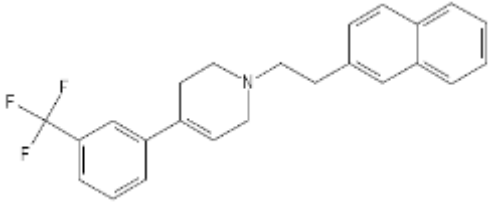
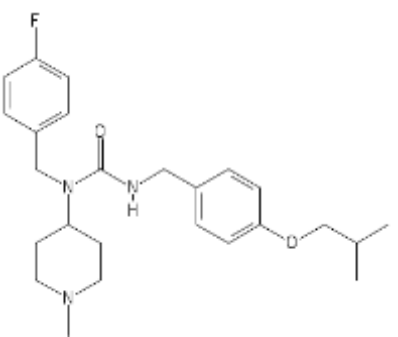
### 2.7.3.2 Sistema serotoninérgico

São dois os agonistas inversos/antagonistas 5-HT<sub>2A</sub>R em desenvolvimento para o tratamento de sintomas neuropsiquiátricos na DA. **Pimavanserina**, um novo antipsicótico aprovado para a psicose na DP, encontra-se em fase II na DA. (346,347) O **ITI-007**, em ensaios de fase III para a agressão na DA, apresenta afinidade para o transportador de serotonina (SERT) e para os recetores dopaminérgicos D<sub>2</sub>. (348–350). Ambos mostraram eficácia, segurança e melhor perfil de segurança que antipsicóticos atuais. (346–348,350,351)

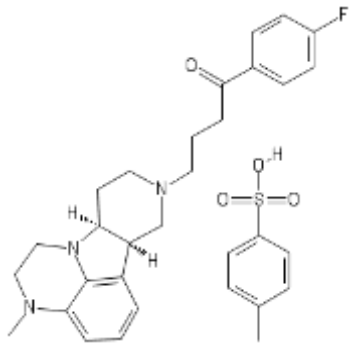
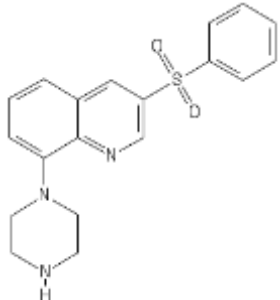
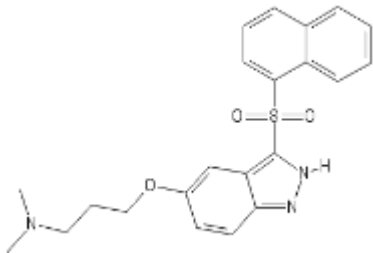
A inibição do 5-HT<sub>6</sub>R leva a um aumento da serotonina e de outros transmissores importantes para a cognição (352,353), atuando principalmente ao nível dos sintomas cognitivos e comportamentais. (352,354) São antagonistas deste recetor a **Intepirdina** e a **Idalopirdina**, em fase III, e o **SUVN-502**, em fase II. (353,355–357) Têm sido estudados em doentes já a fazer terapêutica, de forma a aumentar a resposta à mesma sem aumentar os efeitos secundários associados. (352,355,358,359) Foram seguros e bem tolerados em ensaios anteriores. (357,360,361) Os dois primeiros já se mostraram eficazes na melhoria do estado cognitivo como terapêutica adjuvante ao donepezilo. (352,353,357,360,362)

A ativação do 5-HT<sub>4</sub>R leva a um aumento da libertação de acetilcolina e leva a um desvio do processamento da APP no sentido da via não amiloidogénica. O **SUVN-D4010** é um agonista parcial deste recetor, (363) em fase I de desenvolvimento.

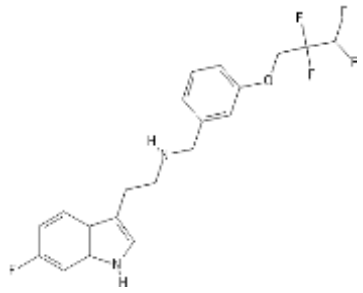
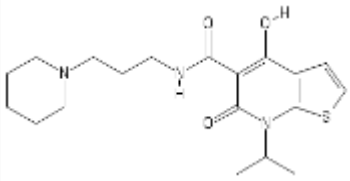
**Tabela 2.18 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema serotoninérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Antagonista 5-HT<sub>1A</sub>R</b>			
<b>Xaliprodeno (SR57746A); Sanofi</b>		Jul 2002	X  O recetor 5-HT <sub>1A</sub> tem sido associado ao controlo do humor e à aprendizagem e memória. (364) Foram realizados dois ensaios de fase III na DA. (52) Não foi eficaz. (364)
<b>Antagonistas 5-HT<sub>2A</sub>R (+ agonista inverso)</b>			
<b>Pimavanserina<sup>+</sup> (ACP-103); ACADIA Pharmaceuticals</b>		Mar 2004	Fase II  O primeiro ensaio na DA dirigia-se à psicose nesta. Encontram-se dois ensaios ativos para a agitação e agressão na DA, a terminar em 2019 e 2020. (52)

**Tabela 2.18 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema serotoninérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>Antagonistas 5-HT<sub>2A</sub>R (+ agonista inverso)</b>			
ITI-007; Intra-Cellular Therapies		Dez 2011	Fase III Em avaliação para a agitação nas demências, incluindo DA, até 2018. (52)
<b>Antagonistas 5-HT<sub>6</sub>R</b>			
Intepirdina (RVT-101; SB 742457); Axovant Sciences		Set 2005	Fase III Está ativo um ensaio em vários tipos de demência, incluindo DA, a decorrer até setembro de 2017, e dois ensaios em DA ligeira a moderada (ensaio MINDSET, em doentes a tomar donepezilo, até outubro de 2017, e a respetiva extensão até 2018). (52)
PF-05212365 (SAM-531); Pfizer		Mai 2006	X Um ensaio de fase II foi terminado prematuramente devido a uma análise interina que previu o falhar dos objetivos. (52)
SUVN-502; Suven Life Sciences		2008	Fase II Encontra-se a decorrer um ensaio de fase II em indivíduos com DA ligeira a moderada a fazer terapêutica com donepezilo e memantina. (52) (Informação sobre a sua descoberta e desenvolvimento em Nirogi et al, 2017 (365))
PF-05212377 (SAM-760); Pfizer		Set 2009	X Ensaio de fase II terminado prematuramente devido a uma análise interina que previu o não alcance dos objetivos. (52)

**Tabela 2.18 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema serotoninérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Antagonistas 5-HT<sub>6</sub>R (continuação)</b>			
<b>Idalopirdina (Lu-AE-58054); Lundbeck</b>		Dez 2009	Fase III  Estudado em fase II e III como terapêutica adjuvante em indivíduos com DA ligeira a moderada a fazer IACHES (ensaio STARBRIGHT) ou a fazer apenas donepezilo (ensaios STARBEAM, STARSHINE e STAR extension). O STAR extension encontra-se ativo até julho de 2017. (52)
<b>Agonistas 5-HT<sub>4</sub>R</b>			
<b>PRX-03140; Epix Pharmaceuticals</b>		Out 2006	X  A empresa faliu em 2009. (366) Dois ensaios de fase II que se encontravam ativos no momento foram terminados. (52)
<b>SUVN-D4010; Suven Life Sciences</b>		Jul 2015	Fase I  Estudo de fase I ativo até outubro de 2017 para avaliar o efeito da alimentação, género, e idade na farmacocinética. (52)

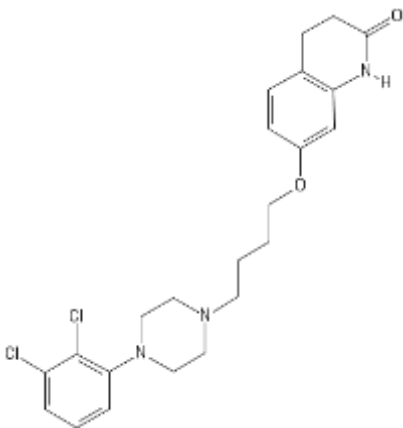
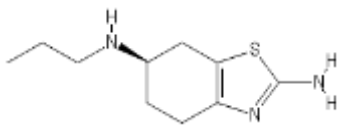
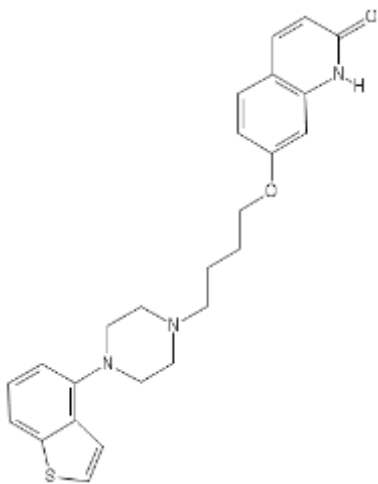
### 2.7.3.3 Sistema dopaminérgico

Na DA, os níveis de dopamina e de alguns dos seus recetores, nomeadamente D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, estão diminuídos. (336)

Os fármacos em desenvolvimento são antipsicóticos atípicos de nova geração, em estudo para controlo sintomático de agitação e/ou psicose. **Aripiprazol** é agonista parcial do D<sub>2</sub>R e do 5-HT<sub>1A</sub>R e antagonista do 5-HT<sub>2A</sub>R. (367) **Brexipiprazol** é agonista parcial do D<sub>2</sub>R e do 5-HT<sub>1A</sub>R e antagonista do 5-HT<sub>2A</sub>R,  $\alpha_{1B}$ -nAChR e  $\alpha_{2C}$ -nAChR. (368,369) A modulação dos D<sub>2</sub>R com agonistas parciais permite diminuir a transmissão dopaminérgica e não tem tantos efeitos extrapiramidais como os antagonistas deste recetor, por exemplo antipsicóticos atípicos de primeira geração. (367–369) Quanto à sua aplicação na DA, encontram-se em fase III para o tratamento da agitação e/ou psicose na DA (52) Dados publicados referentes ao aripiprazol indicam que o mesmo mostrou eficácia no tratamento destes sintomas e foi geralmente bem tolerado com ênfase na sonolência como efeito secundário. Tal como outros

antipsicóticos há um risco aumentado de mortalidade (370), o que também se verifica para o brexpiprazol (371).

**Tabela 2.19 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema dopaminérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Agonista D<sub>2</sub>R parcial</b>			
<b>Aripiprazol;</b> <b>Otsuka</b> <b>Pharmaceutical</b>		Jan 2000	Fase III
<b>Dexpramipexol</b> <b>(KNS-760704;</b> <b>R-pramipexol);</b> <b>Biogen e Virginia</b> <b>Commonwealth</b> <b>University</b>		Mar 2008	X
<b>Brexpiprazol</b> <b>(OPC-34712);</b> <b>Otsuka</b> <b>Pharmaceutical</b> <b>e Lundbeck</b>		Jul 2013	Fase III

**Inibidores da monoaminoxidase B (MAO-B)**

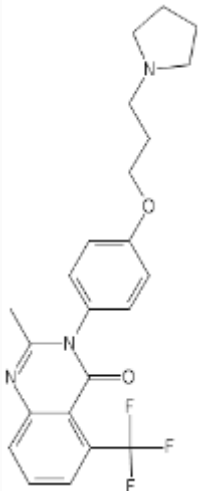
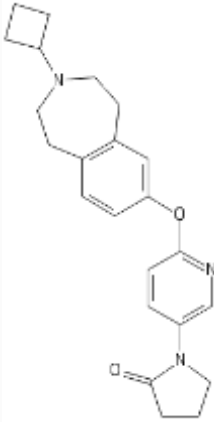
Ver Tabela 2.17



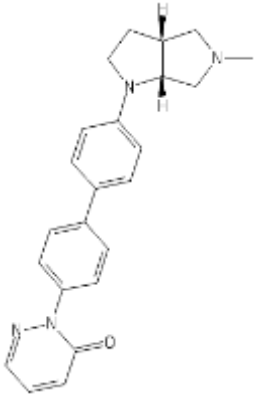
### 2.7.3.4 Sistema histaminérgico

Na DA, há um aumento ou diminuição de histamina em diferentes zonas do cérebro. Esta aumenta a libertação de acetilcolina e influencia os processos cognitivos. (376) O bloqueio do recetor  $H_3$  leva a um aumento extracelular da histamina e acetilcolina, e também de noradrenalina, serotonina e dopamina (377–379). A maioria dos antagonistas/agonistas inversos do  $H_3R$  estudados na DA mostraram-se ineficazes no controlo da sintomatologia. O **SUVN-G3031** encontra-se em fase I (52), foi seguro (377) e não levou a distúrbios do sono (efeito adverso muito verificado nestas moléculas) em estudos pré-clínicos (380).

**Tabela 2.20 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema histaminérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>Antagonistas <math>H_3R</math> (+ agonista inverso)</b>			
<b>MK-0249+; Merck</b>		Nov 2006	X  Foi realizado um ensaio de fase I para avaliar a eficácia em indivíduos com DA ligeira a moderada, tendo o donepezilo como comparador ativo. (52) Não foi eficaz. (372) Antes disso, participou num ensaio de fase II para tratamento sintomático da DA. (52)
<b>GSK239512; GlaxoSmithKline</b>		Mar 2007	X  Chegou a ensaios de fase II em DA ligeira a moderada onde os resultados observados para a maioria dos parâmetros cognitivos a avaliar não foram significativos. (379)

**Tabela 2.20 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema histaminérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Antagonistas H<sub>3</sub>R (* agonista inverso) (continuação)</b>			
<b>ABT-288; AbbVie</b>		Nov 2008	X
<b>S-38093; Servier</b>		Jul 2009	X
<b>SUVN- G3031*; Suven Life Sciences</b>		Set 2014	Fase I

O ensaio de fase II em que se encontrava, em DA ligeira a moderada, foi terminado precocemente porque objetivos pré-definidos para uma data precedente à data final não foram atingidos: não houve melhoria significativa em relação ao grupo de placebo, tendo o grupo a fazer donepezilo monoterapia alcançando melhoria significativa. Foram observados efeitos adversos limitativos de dose como insónia, tonturas, náuseas. (378)

Esteve em ensaios de fase II em DA ligeira a moderada ou apenas moderada, tanto em monoterapia como em associação com o donepezilo. (58) Não foi eficaz. Quanto aos efeitos adversos, um maior risco de queda foi associado ao fármaco. (381)

Já realizado estudo de fase I para avaliação da segurança, tolerabilidade e farmacocinética. Um outro estudo de fase I para avaliar o efeito da alimentação, género, e idade na farmacocinética terminou em maio de 2017. (52) Sem ensaios ativos atualmente.

#### 2.7.4 Sistema GABAérgico

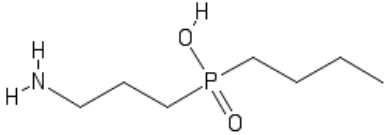

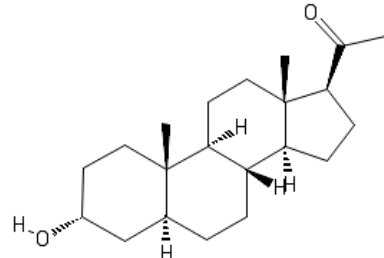
Sendo responsáveis pela maioria das correntes inibitórias no cérebro, a potenciação dos recetores GABA por neuroesteroides apresenta atividade sedativa, ansiolítica, analgésica e anti-convulsionante. (382,383)

A **Alopregnolona** é um esteroide endógeno produzido no SNC e, tal como outros neuroesteroides semelhantes, em doses nanomolares é agonista alostérico dos recetores GABA<sub>A</sub>, potenciando a ativação dos mesmos pelo GABA, e em doses micromolares é agonista direto, atuando mesmo na ausência do neurotransmissor. Existe assim um local de ligação alostérica, no domínio transmembranar da subunidade  $\alpha$ , e um local de ativação direta, na interface das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ . A estrutura C3 $\alpha$ -OH, a estereoseletividade 5 $\alpha$ -H e a cetona em C17 ou C20 são importantes para estas ligações. Concentrações micromolares são conseguidas por administração exógena do esteroide. (383–385) Na DA encontra-se em fase

I onde se encontra em estudo com terapêutica neuroregenerativa, não havendo ainda resultados publicados quanto à segurança e eficácia.

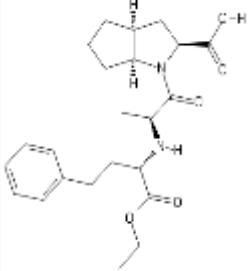
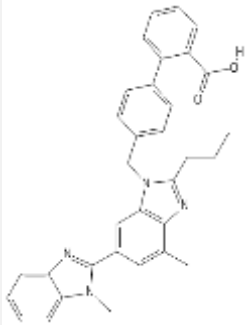
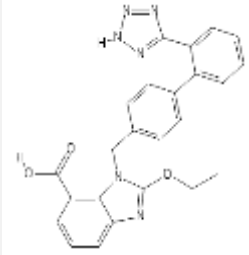
Ver **PXT864** em “2.3.2 Sistema glutamatérgico”.

**Tabela 2.21 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível do sistema GABAérgico**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>SGS742 (CGP36742); Saegis Pharmaceuticals</b>		Abr 2004	X  Antagonista GABA <sub>A</sub> R. Participou num ensaio de fase II em DA ligeira a moderada de 2004 a 2007. (52) Os resultados não foram divulgados. Ensaio anterior demonstrou segurança, tolerabilidade, e uma melhoria significativa na memória de trabalho, velocidade psicomotora e atenção. (386)
<b>PXT864</b>		Fev 2013	Fase II  Ver Tabela 2.16
<b>Alopregnanolona; University of Southern California</b>		Abr 2013	Fase I  Em fase I até dezembro de 2017 para avaliar a segurança e tolerabilidade e determinar a dose máxima tolerável, em indivíduos com DCL e em estadio precoce de DA. (52)

## 2.8 Outros

**Tabela 2.22 – Outras moléculas desenvolvidas para atuar na DA**

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Bloqueadores do eixo renina-angiotensina</b>			
<b>Ramipril</b>		-	X
<b>Telmisartan</b>		-	Fase II
<b>Candesartan</b>		-	Fase II
<b>Neurotrofinas</b>			
<b>CERE-110 (AAV2-NGF); Ceregene</b>		Jun 2004	Fase II
<p><u>Terapia génica - Fator de crescimento neuronal (NGF).</u> A formulação utiliza um vetor viral adeno-associado, o AAV2, que codifica para o NGF, e que, por cirurgia estereotóxica, é inserido no núcleo basal de Meynet, um dos locais com maior grau de degeneração colinérgica. (391–393) Obtem-se uma expressão de NGF constante e prolongada. (392,394) Em ensaio de fase I, foi considerado seguro e bem tolerado. (394) Está a decorrer até 2020 um ensaio de fase II em DA ligeira a moderada. (52)</p>			

**Tabela 2.2 (continuação) – Outras moléculas desenvolvidas para atuar na DA**

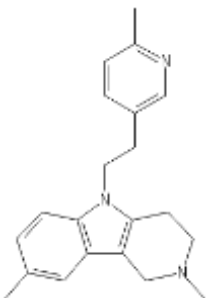
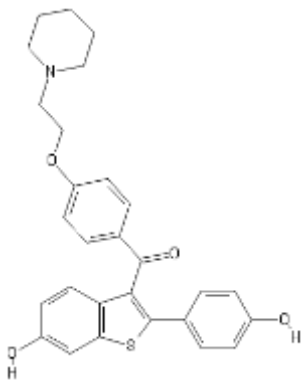
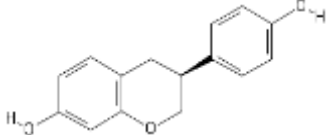
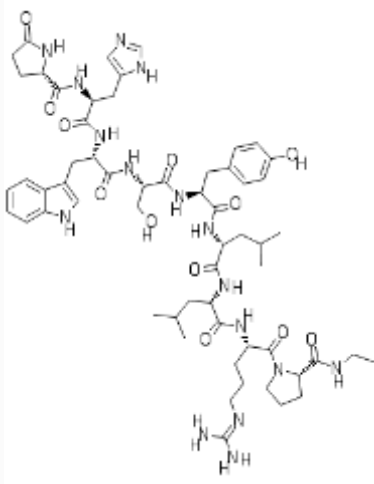
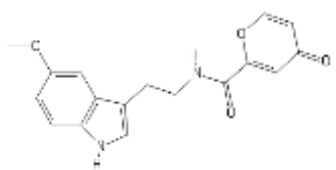
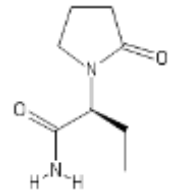
Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Neurotrofinas</b>			
<b>Cerebrolysin; EVER Pharma</b>		Out 2004	Fase II
Preparação peptídica derivada de cérebro de suíno com propriedades farmacodinâmicas semelhantes às dos <u>fatores neurotróficos</u> . A administração é intravenosa. (395) Mostrou ser seguro e bem tolerado, e levou a melhorias significativas na cognição e nos sintomas neuropsiquiátricos. (395–399) Comercializado em alguns países como a China e o México. Um ensaio de fase IV estava planeado, mas não chegou a ser iniciado. (52)			
<b>Estimuladores da função mitocondrial</b>			
<b>Latrepirdina (Dimebon); Pfizer e Medivation</b>		Set 2005	X
Anti-histamínico não seletivo, inibidor fraco da acetil- e butilcolinesterase, inibidor dos canais de cálcio dependentes de voltagem e dos NMDAR, neuroprotetor por manutenção da estrutura e função mitocondrial. (18,400) Em ensaios clínicos, foi bem tolerada e segura. (401,402) Em fase II mostrou-se eficaz (18,402), mas em fase III os resultados foram negativos. (403) Uma meta-análise realizada em 2015 concluiu que não teve efeito na cognição, mas mostrou um efeito benéfico nos sintomas comportamentais. (404)			
<b>Estrogénios</b>		-	X
Os estrogénios estimulam a via não amiloidogénica e a degradação da $\beta$ A pelas metaloproteases 2 e 9, pela IDE, pela neprilissina, e através da glia por fagocitose, promove a desfosforilação da tau, reduz a excitotoxicidade, a inflamação, o stress oxidativo e contraria as alterações bioenergéticas mitocondriais associadas à doença. Foram realizados ensaios de fase III, a maioria em mulheres pós-menopausa com DA. Na maior parte dos estudos os resultados foram negativos. (405)			
<b>Raloxifeno</b>		-	X
<u>Agonista do recetor de estrogénio <math>\beta</math> (ER<math>\beta</math>)</u> . Foi avaliado num ensaio de fase II em mulheres com DA e num de fase II/III em DA. (52)			

Tabela 2.22 (continuação) – Outras moléculas desenvolvidas para atuar na DA

Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Estimuladores da função mitocondrial (continuação)</b>			
<b>S-Equol (AUS-131); Ausio Pharmaceuticals</b>		Set 2008	Fase I/II
<b>Outros</b>			
<b>Leuprolide (VP4896); Voyager Pharmaceutical</b>		-	X
<b>Piromelatina (Neu-P11); Neurim Pharmaceuticals</b>		-	Fase II
<b>Levetiracetam (AGB101)</b>		-	Fase II

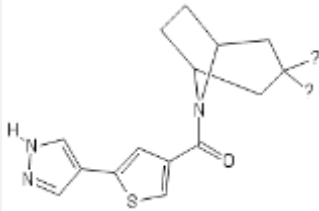
Agonista do recetor de estrogénio  $\beta$  (ER $\beta$ ). (406,407) A estimulação do recetor aumenta a função mitocondrial, nomeadamente o citocromo oxidase. (408) Está ativo até 2019 um ensaio de fase I/II em DA (ensaio SEAD2) cujo objetivo principal é determinar se a molécula leva a um aumento da atividade mitocondrial. (52)

Agonista dos recetores GnRH da hipófise. A sua utilização baseou-se na hipótese de que as gonadotropinas, principalmente a LH, podem contribuir para a patogénese da DA. Este agonista, ao estimular os GnRHR, inibe a produção de LH por um mecanismo de feedback negativo. (409) No ensaio ALADDIN 1, de fase II, foi bem tolerado e estabilizou a função cognitiva em mulheres com DA ligeira a moderada. (410) Participou num ensaio de fase III (ensaio ALADDIN) em DA ligeira a moderada. (52)

Agonista dos recetores de melatonina MT1 e MT2 e dos recetores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>. Em modelos animais, promove o sono, a sensibilidade à insulina, e é neuroprotetor na isquemia (22,411,412) Está a decorrer até 2018 um ensaio de fase II em demência ligeira devido a DA. (52)

Anticonvulsionante, aprovado para o tratamento da epilepsia. Há teorias que defendem que a excitotoxicidade verificada na DA está associada a um aumento do risco de convulsões epiléticas não provocadas. O levetiracetam impede esse fenómeno de epilepsia progressiva. (413) Encontra-se em ensaio de fase II na hiperexcitabilidade neuronal na DA até dezembro de 2017. (52)

Tabela 2.22 (continuação) – Outras moléculas desenvolvidas para atuar na DA

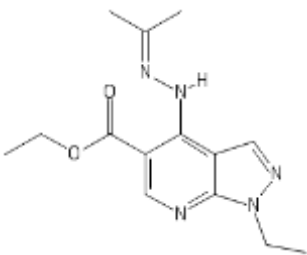
Nome; empresa	Estrutura	1º en- saio	Fase atual
<b>Outros (continuação)</b>			
<b>Xanamem (UE2343); Actinogen Medical</b>	 <p>? → substituinte não divulgado</p>	Jan 2013	Fase II
<b>SaiLuoTong</b>		Abr 2013	Fase III
<b>Plasma de jovens adultos saúdáveis</b>		Set 2014	Fase I
<b>CT1812; Cognition Therapeutics</b>		Set 2015	Fase I/II

### 3. Novos Alvos Terapêuticos na Doença de Alzheimer

#### 3.1 Modulação do processamento da APP

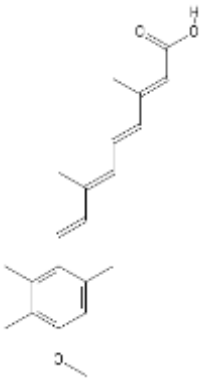
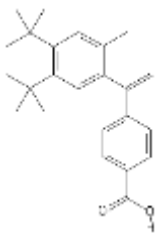
A  $\alpha$ -secretase tem sido investigada como um novo alvo terapêutico. É uma metaloproteinase de zinco constituída pelos seguintes membros da família da desintegrina e metaloprotease A (ADAM): ADAM9, ADAM10, ADAM19 e ADAM17. (11) A  $\alpha$ -secretase mais comumente encontrada nos neurónios é a **ADAM10**. (11,426) A sua potenciação poderia aumentar o processamento da APP através da via não amiloidogénica e aumentar a produção de sAPP $\alpha$ , um fragmento com atividade neuroprotetora e inibitória da  $\beta$ -secretase. (12,426) O principal obstáculo ao desenvolvimento de moduladores desta é o facto de a mesma ter outros substratos. (11,12,426) O aumento da expressão da ADAM 10 foi associado com tumorigénese e progressão tumoral (por aumento da clivagem do Notch) e inflamação crónica (por libertação de citocinas pró-inflamatórias). (12,426) Dois compostos que já participaram em ensaios clínicos são: a acitretina, agonista do recetor do ácido retinóico  $\beta$ , e o já referido bexaroteno, agonista do recetor de retinoide X, também modulador do metabolismo do colesterol. Pensa-se que a ativação de ambas as vias leva a um aumento da expressão desta  $\alpha$ -secretase. Para ver outras vias possivelmente envolvidas e compostos desenvolvidos, ou em desenvolvimento, para atuarem nas mesmas, consultar Vincent, 2016. (426)

**Tabela 3.1 – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da  $\alpha$ -secretase**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>Etazolato (EHT 0202); Exonhit</b>		Dez 2007	X  Estimula a atividade da $\alpha$ -secretase, modula o GABA $_A$ R, e é um inibidor da PDE4. (42,427) Participou num ensaio de fase II para avaliar a segurança, tolerabilidade, e eficácia na DA ligeira a moderada como terapêutica adjuvante de um IAChE. (172)



**Tabela 3.2 (continuação) – Moléculas desenvolvidas para atuar ao nível da  $\alpha$ -secretase**

Nome; empresa	Estrutura	1ºen- saio	Fase atual
<b>Acitretina</b>		Fev 2010	X
<b>Bexaroteno</b>		Fev 2013	X Ver Tabela 2.14

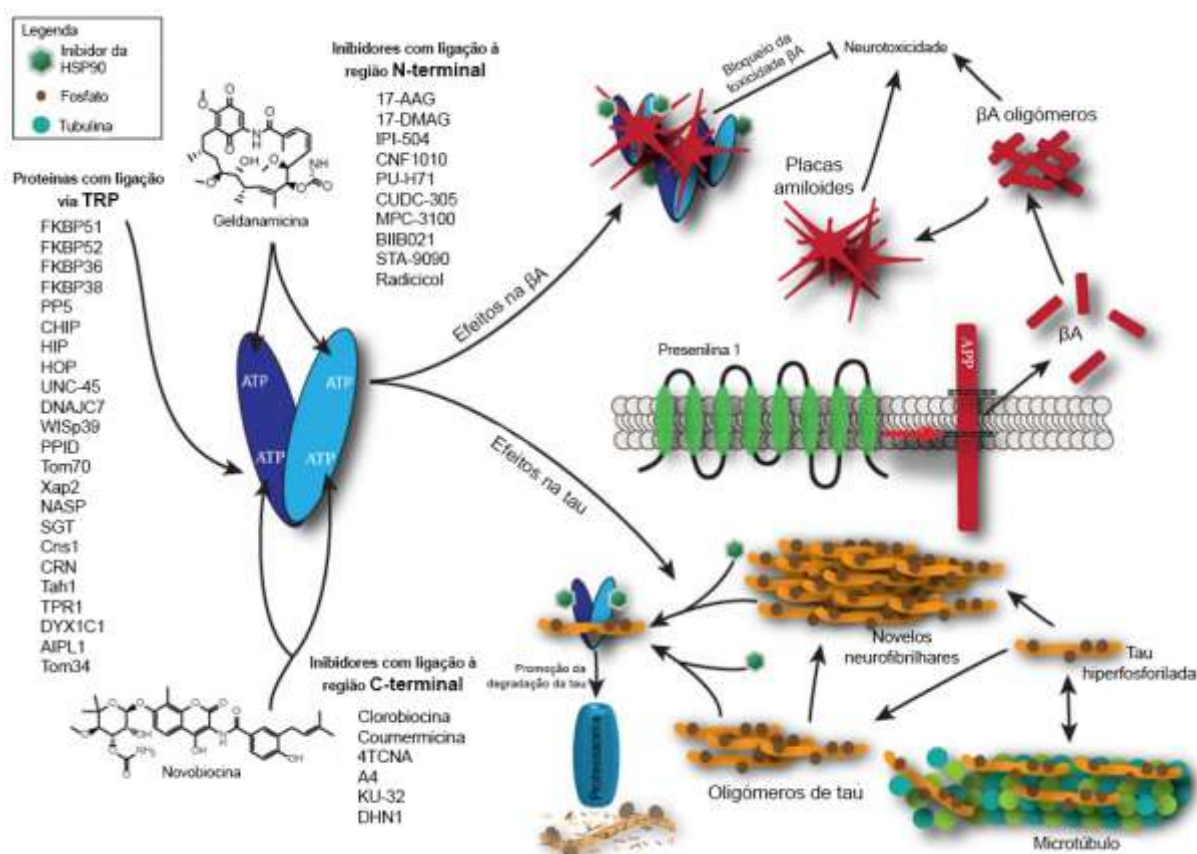
### 3.2 Aumento da eliminação de $\beta$ -amiloide e da tau

A expressão da **neprilissina** e da **enzima de degradação de insulina**, proteases envolvidas na clearance da  $\beta$ A, pode estar comprometida na DA, sendo um possível alvo a considerar. O AICD (ver Figura 1.2) resultante do processamento da APP liga-se ao promotor do gene da neprilissina e modula a sua expressão. Este processo pode ser regulado por inibidores da histona desacetilase como o ácido valproico. (430,431) Parece, no entanto, ser possível atuar nas duas enzimas em simultâneo: o bexaroteno aumenta a expressão de ambas. O mecanismo não é conhecido, mas sugere que haja pelo menos um elemento regulador comum aos dois genes. (431) Nenhum destes compostos foi eficaz em ensaios clínicos e ambos apresentaram problemas de segurança.

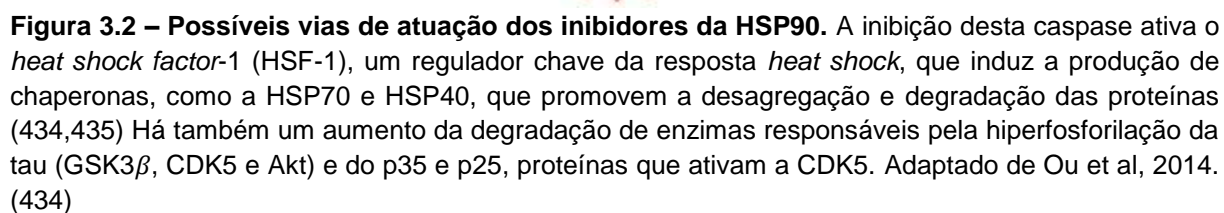
As **chaperonas moleculares** são proteínas envolvidas na correta aquisição das estruturas não primárias das proteínas, ou seja, no seu correto *folding*. Estas podem ainda fazer um *refold* de proteínas *misfolded* ou transferir as mesmas para o proteossoma, onde são degradadas. Isto ajuda a manutenção da conformação fisiológica das proteínas e impede a agregação que pode ocorrer das proteínas com estrutura errada. Há hipóteses que assumem que algumas chaperonas, ou proteínas semelhantes a estas, podem atuar ao nível

da  $\beta$ A e da tau, particularmente na sua agregação. São elas a HSP90, HSP70 (*heat shock protein 70*), HSP40 e clusterina. (73)

A **HSP90** encontra-se envolvida na agregação da tau hiperfosforilada, aumentando a sua estabilidade e a do p35, um ativador da CDK5. (432,433) A sua inibição tem um papel positivo ao nível da tau e da  $\beta$ A (ver Figura 3.1 e Figura 3.2). (432) No entanto, a HSP90 é um importante regulador de vários processos celulares, encontrando-se a sua modulação associada a efeitos adversos. Uma estratégia para aumentar a especificidade da inibição é atuar nas cochaperonas da HSP90, e não diretamente na HSP90. Estas chaperonas controlam a sua atividade de ATPase, o impacto no metabolismo dos seus alvos, e modulam menos processos celulares. (433) Há inibidores da HSP90 em desenvolvimento (ver Blair et al, 2014), no entanto, a maioria está a ser estudada para o tratamento de cancro pois atenuam várias vias essenciais à viabilidade celular e ao desenvolvimento tumoral. (433,434) O EGCG é um dos inibidores já estudado na DA.



**Figura 3.1 – Regulação da HSP90 por inibidores e cochaperonas.** Há dois tipos de cochaperonas, as que se ligam à região C-terminal via domínio tetratricopéptido (TPR) e as que não necessitam deste para a ligação. Inibidores que se ligam à região N-terminal ativam o HSF1 (ver Figura 3.2), ao contrário dos que se ligam à região C-terminal. A inibição de qualquer uma das duas vias leva a uma diminuição dos níveis de tau, com promoção da sua degradação no proteossoma por bloqueio da dimerização da região N-terminal e consequente impedimento da libertação do alvo. Adaptado de Blair et al, 2014. (433)



Outro possível alvo é o autofagossoma, particularmente um dos seus constituintes, a **beclina-1**. Na DA, a degradação lisossomal com origem no autofagossoma está comprometida, afetando o processamento da APP. A beclina-1 é uma das proteínas envolvidas na iniciação da formação do autofagossoma e sua expressão está diminuída na DA. Antes do desenvolvimento de qualquer estratégia, seria importante perceber os mecanismos que estão na origem desta diminuição. Algumas das hipóteses incluem:

diminuição da sua expressão génica, clivagem proteolítica por caspases, retenção nos agregados de tau, formação de complexos inibitórios com outras proteínas. (19,437)

### 3.3 Inibição da hiperfosforilação da tau

Muitas são as enzimas que podem estar envolvidas na hiperfosforilação da tau. (12) A **GSK-3 $\beta$**  e a quinase dependente de ciclina 5 (CDK5) são as mais estudadas na DA e as que aparentam ser mais promissoras em termos de alvo. O tideglusib e o lítio são inibidores da GSK-3 $\beta$  que já participaram em ensaios clínicos na DA. Muitos outros são sugeridos em (438). A **CDK5**, que se encontra desregulada na DA, tem vários substratos através dos quais regula a dinâmica dos microtúbulos neuronais, sendo a tau um deles. Ainda nenhuma molécula atingiu a fase de ensaios clínicos na DA. Apesar de existirem já inibidores desta enzima, os mesmos não são seletivos e inibem outras CDKs que levam a reações adversas graves. Uma forma de contornar isto seria, ou desenvolver inibidores seletivos, ou atuar noutras moléculas capazes de influenciar a sua ativação. Os danos neurotóxicos presentes na doença, ao alterarem a homeostase do cálcio, ativam a calpaína, uma protease que cliva o **p35** em p25. Os complexos CDK5-p25 apresentam atividade de quinase superior aos complexos CDK5-p35. (439) Agonistas  $\sigma 1$  e inibidores da HSP90 diminuem a degradação da p35 em p25. (440) Seria também útil desenvolver moléculas que inibissem a ligação CDK5-p25 mas não a CDK5-p35. (439) Poderão ainda surgir inibidores que atuam em ambas as enzimas uma vez que o domínio de ligação do ATP é estruturalmente semelhante. (438)

## Discussão

Dos fármacos comercializados para a DA, o último a ser aprovado pela EMA e pela FDA foi a memantina, em 2002 e 2003, respetivamente. Desde então apenas novas formulações, novas combinações, e medicamentos genéricos dos fármacos previamente aprovados têm alcançado o mercado. Conclui-se assim que apesar dos inúmeros esforços para o desenvolvimento de novas terapêuticas, nomeadamente terapêuticas moduladoras da doença em si e não só dos sintomas, não têm conseguido alcançar os objetivos.

Quanto às moléculas promotoras da eliminação da  $\beta$ A, no campo da imunização ativa, devido aos problemas de autoimunidade com os quais a primeira vacina se deparou, as novas vacinas apresentam epítomos da região N-terminal da  $\beta$ A, que promovem menor ativação dos linfócitos T, e adjuvantes que não induzem os Th1. (50,64) Apesar de ultrapassado este obstáculo, as moléculas em desenvolvimento ainda se encontram em fase II e não apresentam dados de eficácia divulgados. O mesmo não acontece na imunização passiva, uma das áreas com mais moléculas em fase III de desenvolvimento (Tabela 2.). Esta área também se deparou com alguns problemas. Durante o estudo do primeiro mAc foram observados casos de ARIA resultantes da sobreativação da microglia. Os mAc que lhe seguiram utilizam estratégias para minimizar estes efeitos (região Fc modificada, utilização de IgG4 como *backbone*, entre outras). (48,89,96,97) Ultrapassados os problemas de segurança, vários ensaios de fase III não conseguiram demonstrar redução do declínio cognitivo em DA ligeira ou moderada. Com base na hipótese de que a falta de eficácia se deve ao estado já avançado da doença, os ensaios orientaram-se para estadios precoces da doença, e até para uma perspetiva preventiva. Estão a decorrer, até 2022, pelo menos 8 ensaios de fase III. Nas terapêuticas para modulação do processamento da APP, a área mais explorada é a inibição da  $\beta$ -secretase, também com várias moléculas em fase III. O progresso nos inibidores da  $\gamma$ -secretase tem sido atrasado pela falta de seletividade das moléculas e consequentes efeitos adversos. O futuro da inibição desta enzima passará por inibidores com seletividade para esta, que não afetem a via do Notch, ou de moduladores que alterem a sua atividade no sentido da produção de espécies  $\beta$ A menos tóxicas, também poupando o Notch. (98) É preciso ter ainda em atenção que esta enzima participa na via não amiloidogénica e que a APP e os fragmentos derivados do seu normal processamento estão envolvidos em processos fisiológicos como a adesão celular, crescimento celular, diferenciação, regulação génica e modulação da função mitocondrial. (11) Estas vias não devem ser inibidas. A  $\alpha$ -secretase é um alvo recente cuja modulação enfrenta também problemas de seletividade.

A falta de eficácia por parte de moléculas que atuam na  $\beta$ A levantou algumas dúvidas quanto à hipótese amiloidogénica. Apesar de a mesma manter a sua credibilidade, suportada

pelas mutações que envolvem a APP e as presenilinas e que explicam alguns dos casos da doença, alguns investigadores voltaram as atenções para a proteína tau hiperfosforilada. Apesar de algumas das estratégias em redor desta já terem alguns anos, a imunização é recente, com moléculas em fases mais precoces de desenvolvimento e sobre as quais ainda não há muita informação divulgada. Nesta área, seria importante esclarecer o mecanismo pelo qual a tau é eliminada e se a internalização do Ac realmente ocorre. (165) Em relação aos inibidores da fosforilação, nomeadamente da GSK-3, há algumas preocupações quanto à toxicidade. Todavia, uma vez que os seus níveis se encontram aumentados nesta patologia, uma inibição parcial seria hipoteticamente suficiente. Inibidores que não competem com o ATP são preferíveis pois apresentam maior seletividade e menor valor de  $C_{50}$ , logo menor toxicidade. (438) A modulação da agregação não parece muito promissora, com a única molécula em desenvolvimento, o LMTM, a falhar ensaios de fase III. (192,193) A utilização de estabilizadores dos microtúbulos encontra-se apenas numa fase inicial. (441)

Estratégias que atuam na neuroinflamação e no stress oxidativo são interessantes do ponto de vista de que são processos que parecem preceder o aparecimento dos agregados de  $\beta$ A e tau. (208) A utilização de AINEs e inibidores seletivos da COX2, que segundo estudos epidemiológicos aparentava ser promissora, mostrou-se inconclusiva. Algumas das razões apontadas são variações no estadio em que a terapêutica é iniciada, a duração do tratamento e a dose e classe dos fármacos. (15,197) Há hipóteses que defendem que a ação destes fármacos, já na presença da doença, pode ser prejudicial por contrariar possíveis ações benéficas da microglia. (197) Assim, avaliou-se o seu desempenho na prevenção da patologia, mas os resultados também não foram positivos na maioria dos estudos. (197) Para combater a neuroinflamação, são necessárias novas estratégias que diminuam o fenótipo pró-inflamatório da microglia, enquanto mantêm a sua função de clearance. Isto é reforçado pelo facto de uma diminuição da microglia funcional, capaz de produzir fatores de crescimento como o fator de crescimento derivado do cérebro (BDNF) levar a um maior impacto na integridade neuronal uma vez que estes contribuem, por exemplo, para a formação sináptica. (15,214) Aparentemente, o estrogénio (Tabela 2.) e a minociclina são capazes de alterar o fenótipo da microglia neste sentido. (405) Vários compostos naturais que atuam tanto na neuroinflamação como no stress oxidativo, estão a ser estudadas. É o caso da curcumina, da minociclina e do EGCG. A maior vantagem destes é que atuam em várias das vias possivelmente envolvidas na patologia e não só nas enunciadas. Encontram-se ainda em estudo moléculas que atuam em vias mais específicas, como é o caso do GC 021109 e o neflamapimod.

Moléculas que atuam nas vias da insulina, nomeadamente antidiabéticos orais já comercializados, estão também a ser investigados com base na hipótese de que estas vias estão alteradas na doença. Há autores que até se referem à DA como diabetes tipo III, devido

ao aumento da resistência à insulina verificado no cérebro. A grande vantagem de recorrer a fármacos já comercializados é que a segurança dos mesmos já se encontra estudada e, muitas vezes, bem definida. Os principais grupos de fármacos em estudo são os agonistas PPAR $\gamma$ , os incretinomiméticos, as biguanidas e a própria insulina. A administração da insulina é intranasal para evitar hipoglicémias, problema não presente nos outros fármacos.

Tal como o que aconteceu com os AINEs, estudos epidemiológicos demonstraram uma possível ligação entre o uso de estatinas e a redução do risco de desenvolver DA. Posteriormente, isto foi contrariado por outros estudos, havendo meta-análises que desmentem a sua utilidade no tratamento e prevenção da doença. (4,442) Apenas a sinvastatina continua em estudo. Moléculas com outros mecanismos de ação também foram estudadas, mas o seu desenvolvimento já não se encontra ativo.

A maioria dos compostos em desenvolvimento para modulação de sistemas de neurotransmissão atua apenas a nível sintomático, o que não deixa de ser importante, visto que nem todos os sintomas são endereçados com as terapêuticas aprovadas. Há também espaço para descobrir fármacos com melhor perfil de segurança e tolerabilidade e aos quais um maior número de doentes responda de forma favorável. A descoberta de novos antidepressivos e antipsicóticos seria particularmente útil uma vez que 25 a 50 % dos doentes apresenta sinais de psicose, associados a um pior prognóstico (declínio funcional mais rápido, aumento do fardo do cuidador, colocação precoce em lares, aumento da morbilidade e mortalidade), e não existe um tratamento adequado para estes casos (antipsicóticos atuais apresentam-se pouco eficazes ou com problemas de tolerabilidade e/ou segurança). (346,443,444)

Sem nenhuma terapêutica modificadora da doença aprovada até ao momento, e sem se conhecer os processos que estão na origem da mesma, apesar das muitas hipóteses, uma abordagem inteligente é o uso de agentes multi-target. Apesar de algumas das moléculas em estudo apresentar mais que um alvo, por exemplo compostos com origem natural, são poucas as que são desenvolvidas deliberadamente para atuar em duas estruturas ou vias distintas. Propriedades chave para as mesmas seriam: facilidade em alcançar o alvo e efetividade e segurança superior à das moléculas nas quais se baseou o seu desenvolvimento. (445) Vários agentes já foram propostos na literatura, muitos deles contemplando farmacóforos de fármacos já aprovados (446–451). Um deles, o ladostigil, chegou a ensaios clínicos, mas foi descontinuado (Tabela 2. e anexo A7). No entanto, há autores que defendem que a investigação se deve direccionar para alvos com maior credibilidade como modificadores da doença. (445) Neste sentido, já se encontram em estudo, por exemplo, formas de imunomodulação capazes de atuar simultaneamente nos oligómeros de  $\beta$ A e tau, as espécies mais tóxicas. (452–456)

Em paralelo com o desenvolvimento de novas formas de prevenir, atenuar, ou mesmo curar a doença, continuam a ser descobertos e investigados potenciais novos alvos. Os mais promissores aparentam continuar relacionados com os achados mais relevantes da patologia, nomeadamente a  $\beta$ A e a tau.



## Conclusão

A DA é uma patologia que afeta cada vez mais indivíduos e que sobrecarrega cada vez mais as sociedades e os governos. Não havendo soluções efetivas para o seu tratamento, a busca do mesmo é cada vez mais urgente. Muitas são as entidades que se têm dedicado à descoberta de fármacos nesta área e muitas têm sido as moléculas a alcançar a fase clínica de desenvolvimento, no entanto, poucas são as que demonstraram eficácia, e nulas as que têm alcançado o mercado nos últimos 14 anos. A falta de conhecimento em relação à natureza e ao processo patológico pode ser uma das razões para estes resultados. Na complexidade desta doença multifatorial estão envolvidas inúmeras moléculas, vias, genes longe de ser completamente esclarecidos.

Em maio do presente ano, 2017, a Organização Mundial de Saúde aprovou o Plano de Ação Global para as Demências 2017-2025, onde uma das grandes áreas de atuação é a investigação e inovação. Este plano reforça a necessidade de desenvolver estratégias preventivas, de redução do risco, de tratamento e mesmo curativas para estas doenças. Com a aplicação deste, espera-se que a investigação na área das demências duplique entre 2017 e 2025. (457) Espera-se que este aumento traga consigo respostas e soluções.

# Referências Bibliográficas

1. Prince M, Wimo A, Guerchet M, Gemma-Claire Ali M, Wu Y-T, Prina M, et al. World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia; An Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends. 2015.
2. Dementia: a public health priority. World Health Organization;
3. Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Reports*. 2015;67(2):195–203.
4. McGuinness B, Craig D, Bullock R, Passmore P. Statins for the prevention of dementia. In: McGuinness B, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2016. p. CD003160.
5. Cacace R, Slegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(6):733–48.
6. Magi S, Castaldo P, Macrì ML, Maiolino M, Matteucci A, Bastioli G, et al. Intracellular Calcium Dysregulation: Implications for Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1–14.
7. Symptoms - Alzheimer's Society. [cited 2017 Jun 12]. <https://www.alzheimers.org.uk/info/20064/symptoms>
8. Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2016;388(10043):505–17.
9. O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. *Annu Rev Neurosci*. 2011;34(1):185–204.
10. Thinakaran G, Koo EH. Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function. *J Biol Chem*. 2008;283(44):29615–9.
11. Wilkins HM, Swerdlow RH. Amyloid precursor protein processing and bioenergetics. *Brain Res Bull*. 2016;
12. Kuruva CS, Reddy PH. Amyloid beta modulators and neuroprotection in Alzheimer's disease: a critical appraisal. *Drug Discov Today*. 2017;22(2):223–33.
13. Guo T, Noble W, Hanger DP. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol*. 2017;133(5):665–704.
14. Bolós M, Perea JR, Avila J. Alzheimer's disease as an inflammatory disease. *Biomol Concepts*. 2017;8(1):37–43.
15. Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(6):358–72.
16. Dallérac G, Rouach N. Astrocytes as new targets to improve cognitive functions. *Prog Neurobiol*. 2016;144:48–67.
17. Wes PD, Sayed FA, Bard F, Gan L. Targeting microglia for the treatment of Alzheimer's Disease. *Glia*. 2016;64(10):1710–32.
18. Kumar A, Singh A. A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions. *Front Pharmacol*. 2015;6:206.
19. Kim EK, Choi E-J. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update. *Arch Toxicol*. 2015;89(6):867–82.
20. Cabezas-Opazo FA, Vergara-Pulgar K, Pérez MJ, Jara C, Osorio-Fuentealba C, Quintanilla RA. Mitochondrial Dysfunction Contributes to the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:1–12.
21. Ganguly G, Chakrabarti S, Chatterjee U, Saso L. Proteinopathy, oxidative stress and mitochondrial dysfunction: cross talk in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Drug Des Devel Ther*. 2017;Volume11:797–810.
22. Miller E, Morel A, Saso L, Saluk J. Melatonin redox activity. Its potential clinical applications in neurodegenerative disorders. *Curr Top Med Chem*. 2015;15(2):163–9.
23. Tellone E, Galtieri A, Russo A, Giardina B, Ficarra S. Resveratrol: A Focus on Several Neurodegenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:1–14.

24. Liu C-C, Hu J, Zhao N, Wang J, Wang N, Cirrito JR, et al. Astrocytic LRP1 Mediates Brain A $\beta$  Clearance and Impacts Amyloid Deposition. *J Neurosci*. 2017;37(15).
25. Bush AI, Tanzi RE. Therapeutics for Alzheimer's disease based on the metal hypothesis. *Neurotherapeutics*. 2008;5(3):421–32.
26. Cristóvão JS, Santos R, Gomes CM. Metals and Neuronal Metal Binding Proteins Implicated in Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1–13.
27. Lombardo S, Maskos U. Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. *Neuropharmacology*. 2015;96(Pt B):255–62.
28. Kumar A, Nisha CM, Silakari C, Sharma I, Anusha K, Gupta N, et al. Current and novel therapeutic molecules and targets in Alzheimer's disease. *J Formos Med Assoc*. 2016;115(1):3–10.
29. Marks MJ, Wageman CR, Grady SR, Gopalakrishnan M, Briggs CA. Selectivity of ABT-089 for  $\alpha 4\beta 2^*$  and  $\alpha 6\beta 2^*$  nicotinic acetylcholine receptors in brain. *Biochem Pharmacol*. 2009;78(7):795–802.
30. Koukouli F, Maskos U. The multiple roles of the  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor in modulating glutamatergic systems in the normal and diseased nervous system. *Biochem Pharmacol*. 2015;97(4):378–87.
31. Echeverria V, Yarkov A, Aliev G. Positive modulators of the  $\alpha 7$  nicotinic receptor against neuroinflammation and cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 2016;144:142–57.
32. Egea J, Buendia I, Parada E, Navarro E, León R, Lopez MG. Anti-inflammatory role of microglial  $\alpha 7$  nAChRs and its role in neuroprotection. *Biochem Pharmacol*. 2015;97(4):463–72.
33. Melancon BJ, Tarr JC, Panarese JD, Wood MR, Lindsley CW. Allosteric modulation of the M1 muscarinic acetylcholine receptor: improving cognition and a potential treatment for schizophrenia and Alzheimer's disease. *Drug Discov Today*. 2013;18(23–24):1185–99.
34. Lebois EP, Schroeder JP, Esparza TJ, Bridges TM, Lindsley CW, Conn PJ, et al. Disease-Modifying Effects of M1 Muscarinic Acetylcholine Receptor Activation in an Alzheimer's Disease Mouse Model. *ACS Chem Neurosci*. 2017;acschemneuro.6b00278.
35. Davie BJ, Christopoulos A, Scammells PJ. Development of M1 mAChR Allosteric and Bitopic Ligands: Prospective Therapeutics for the Treatment of Cognitive Deficits. *ACS Chem Neurosci*. 2013;4(7):1026–48.
36. Fisher A. Cholinergic modulation of amyloid precursor protein processing with emphasis on M1 muscarinic receptor: perspectives and challenges in treatment of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2012;120:22–33.
37. Danysz W, Parsons CG. Alzheimer's disease,  $\beta$ -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - searching for the connections. *Br J Pharmacol*. 2012;167(2):324–52.
38. Danysz W, Parsons CG. The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2003;18(S1):S23–32.
39. Mota SI, Ferreira IL, Rego AC. Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease – A focus on NMDA receptors. *Neuropharmacology*. 2014;76:16–26.
40. Chang PK-Y, Verbich D, McKinney RA. AMPA receptors as drug targets in neurological disease - advantages, caveats, and future outlook. *Eur J Neurosci*. 2012;35(12):1908–16.
41. Lee K, Goodman L, Fourie C, Schenk S, Leitch B, Montgomery JM. AMPA Receptors as Therapeutic Targets for Neurological Disorders. In: *Advances in protein chemistry and structural biology*. 2016. p. 203–61.
42. Kulshreshtha A, Piplani P. Current pharmacotherapy and putative disease-modifying therapy for Alzheimer's disease. *Neurol Sci*. 2016;37(9):1403–35.
43. Francis PT. Altered glutamate neurotransmission and behaviour in dementia: evidence from studies of memantine. *Curr Mol Pharmacol*. 2009;2(1):77–82.
44. Mendiola-Precoma J, Berumen LC, Padilla K, Garcia-Alcocer G. Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1–17.
45. Galantos Pharma GmbH - Memogain. [cited 2017 May 23]. <http://www.galantos.com/index.php/en/Products/Memogain-Overview.php?PHPSESSID=9ab27056ae9535495c8c346b4922be3d>
46. Huang Y, Mucke L. Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Cell*. 2012;148(6):1204–22.
47. Cai Z, Liu N, Wang C, Qin B, Zhou Y, Xiao M, et al. Role of RAGE in Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol*. 2016;36(4):483–95.

48. Leyhe T, Andreasen N, Simeoni M, Reich A, von Arnim CA, Tong X, et al. Modulation of  $\beta$ -amyloid by a single dose of GSK933776 in patients with mild Alzheimer's disease: a phase I study. *Alzheimers Res Ther*. 2014;6(2):19.
49. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, et al. The antibody aducanumab reduces A $\beta$  plaques in Alzheimer's disease. *Nature*. 2016;537(7618):50–6.
50. Tabira T. Immunization therapy for Alzheimer disease: a comprehensive review of active immunization strategies. *Tohoku J Exp Med*. 2010;220(2):95–106.
51. Uro-Coste E, Russano de Paiva G, Guilbeau-Frugier C, Sastre N, Ousset PJ, da Silva NA, et al. Cerebral amyloid angiopathy and microhemorrhages after amyloid beta vaccination: case report and brief review. *Clin Neuropathol*. 29(4):209–16.
52. ClinicalTrials.gov (A service of the U.S. National Institutes of Health). [cited 2017 Mar 13]. <https://clinicaltrials.gov/>
53. Kokjohn TA, Roher AE. Antibody responses, amyloid-beta peptide remnants and clinical effects of AN-1792 immunization in patients with AD in an interrupted trial. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2009;8(2):88–97.
54. Winblad B, Andreasen N, Minthon L, Floesser A, Imbert G, Dumortier T, et al. Safety, tolerability, and antibody response of active A $\beta$  immunotherapy with CAD106 in patients with Alzheimer's disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, first-in-human study. *Lancet Neurol*. 2012;11(7):597–604.
55. Wiessner C, Wiederhold K-H, Tissot AC, Frey P, Danner S, Jacobson LH, et al. The Second-Generation Active A $\beta$  Immunotherapy CAD106 Reduces Amyloid Accumulation in APP Transgenic Mice While Minimizing Potential Side Effects. *J Neurosci*. 2011;31(25):9323–31.
56. Farlow MR, Andreasen N, Riviere M-E, Vostiar I, Vitaliti A, Sovago J, et al. Long-term treatment with active A $\beta$  immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2015;7(1):23.
57. Vandenberghe R, Riviere M-E, Caputo A, Sovago J, Maguire RP, Farlow M, et al. Active A $\beta$  immunotherapy CAD106 in Alzheimer's disease: A phase 2b study. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv*. 2017;3(1):10–22.
58. The European Union Clinical Trials Register. [cited 2017 Mar 13]. <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/trial/2006-004014-41/SE>
59. Arai H, Suzuki H, Yoshiyama T, Lobello K, Peng Y, Liu E, et al. Safety, tolerability and immunogenicity of an immunotherapeutic vaccine (vanutide cridifcar [ACC-001]) and the QS-21 adjuvant in Japanese individuals with mild-to-moderate Alzheimer's disease: A phase IIa, multicenter, randomized, adjuvant and placebo clinical trial. *Alzheimer's Dement*. 2013;9(4):P282.
60. Hagen M, Seubert P, Jacobsen S, Schenk D, Pride M, Arumugham R, et al. The A $\beta$  peptide conjugate vaccine, ACC-001, generates N-terminal anti-A $\beta$  antibodies in the absence of A $\beta$  directed T-cell responses. *Alzheimer's Dement*. 2011;7(4):S460–1.
61. Mandler M, Santic R, Gruber P, Cinar Y, Pichler D, Funke SA, et al. Tailoring the Antibody Response to Aggregated A $\beta$  Using Novel Alzheimer-Vaccines. Lakshmana MK, editor. *PLoS One*. 2015;10(1):e0115237.
62. Schneeberger A, Mandler M, Ottawa O, Zauner W, Mattner F, Schmidt W. Development of AFFITOPE vaccines for Alzheimer's disease (AD)-from concept to clinical testing. *J Nutr Health Aging*. 2009;13(3):264–7.
63. Zakaib GD. In Surprise, Placebo, not A $\beta$  Vaccine, Said to Slow Alzheimer's | ALZFORUM. 2014 [cited 2017 Apr 7]. <http://www.alzforum.org/news/research-news/surprise-placebo-not-av-vaccine-said-slow-alzheimers>
64. Wang CY, Finstad CL, Walfield AM, Sia C, Sokoll KK, Chang T-Y, et al. Site-specific UBith® amyloid- $\beta$  vaccine for immunotherapy of Alzheimer's disease. *Vaccine*. 2007;25(16):3041–52.
65. Davtyan H, Ghochikyan A, Petrushina I, Hovakimyan A, Davtyan A, Poghosyan A, et al. Immunogenicity, Efficacy, Safety, and Mechanism of Action of Epitope Vaccine (Lu AF20513) for Alzheimer's Disease: Prelude to a Clinical Trial. *J Neurosci*. 2013;33(11):4923–34.
66. Miles LA, Crespi GAN, Doughty L, Parker MW. Bapineuzumab captures the N-terminus of the Alzheimer's disease amyloid-beta peptide in a helical conformation. *Sci Rep*. 2013;3:1302.
67. Kerchner GA, Boxer AL. Bapineuzumab. *Expert Opin Biol Ther*. 2010;10(7):1121–30.
68. Ultsch M, Li B, Maurer T, Mathieu M, Adolfsson O, Muhs A, et al. Structure of Crenezumab Complex with A $\beta$  Shows Loss of  $\beta$ -Hairpin. *Nat Publ Gr*. 2016;
69. Miles LA, Crespi GAN, Doughty L, Parker MW. Bapineuzumab captures the N-terminus of the Alzheimer's disease amyloid-beta peptide in a helical conformation. *Sci Rep*. 2013;3:1302.

70. Vandenberghe R, Rinne JO, Boada M, Katayama S, Scheltens P, Vellas B, et al. Bapineuzumab for mild to moderate Alzheimer's disease in two global, randomized, phase 3 trials. *Alzheimers Res Ther.* 2016;8(1):18.
71. Frisoni GB. ARIA from off-key operas? *Lancet Neurol.* 2012;11(3):207–8.
72. Sperling R, Salloway S, Brooks DJ, Tampieri D, Barakos J, Fox NC, et al. Amyloid-related imaging abnormalities in patients with Alzheimer's disease treated with bapineuzumab: a retrospective analysis. *Lancet Neurol.* 2012;11(3):241–9.
73. Graham WV, Bonito-Oliva A, Sakmar TP. Update on Alzheimer's Disease Therapy and Prevention Strategies. *Annu Rev Med.* 2017;68(1):413–30.
74. Crespi GAN, Hermans SJ, Parker MW, Miles LA. Molecular basis for mid-region amyloid- $\beta$  capture by leading Alzheimer's disease immunotherapies. *Sci Rep.* 2015;5(1):9649.
75. Eli Lilly and Company Announces Top-Line Results on Solanezumab Phase 3 Clinical Trials in Patients with Alzheimer's Disease. [cited 2017 Mar 12]. <https://investor.lilly.com/releaseDetail.cfm?ReleaseID=702211>
76. Siemers ER, Sundell KL, Carlson C, Case M, Sethuraman G, Liu-Seifert H, et al. Phase 3 solanezumab trials: Secondary outcomes in mild Alzheimer's disease patients. *Alzheimer's Dement.* 2016;12(2):110–20.
77. Lilly Announces Top-Line Results of Solanezumab Phase 3 Clinical Trial. [cited 2017 Mar 12]. <https://investor.lilly.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=1000871>
78. The Lancet Neurology. Solanezumab: too late in mild Alzheimer's disease? *Lancet Neurol.* 2017;16(2):97.
79. Bateman RJ, Benzinger TL, Berry S, Clifford DB, Duggan C, Fagan AM, et al. The DIAN-TU Next Generation Alzheimer's prevention trial: Adaptive design and disease progression model. *Alzheimer's Dement.* 2017;13(1):8–19.
80. Mills SM, Mallmann J, Santacruz AM, Fuqua A, Carril M, Aisen PS, et al. Preclinical trials in autosomal dominant AD: Implementation of the DIAN-TU trial. *Rev Neurol (Paris).* 2013;169(10):737–43.
81. Adolfsson O, Pihlgren M, Toni N, Varisco Y, Buccarello AL, Antonietto K, et al. An effector-reduced anti- $\beta$ -amyloid (A $\beta$ ) antibody with unique a $\beta$  binding properties promotes neuroprotection and glial engulfment of A $\beta$ . *J Neurosci.* 2012;32(28):9677–89.
82. Bachurin SO, Bovina E V., Ustyugov AA. Drugs in Clinical Trials for Alzheimer's Disease: The Major Trends. *Med Res Rev.* 2017;
83. Roche announces phase II clinical results of crenezumab in Alzheimer's disease. [cited 2017 Mar 13]. <http://www.roche.com/investors/updates/inv-update-2014-07-16.htm>
84. Ostrowitzki S, Deptula D, Thurfjell L, Barkhof F, Bohrmann B, Brooks DJ, et al. Mechanism of Amyloid Removal in Patients With Alzheimer Disease Treated With Gantenerumab. *Arch Neurol.* 2012;69(2):198.
85. La Porte SL, Bollini SS, Lanz TA, Abdiche YN, Rusnak AS, Ho W-H, et al. Structural Basis of C-terminal  $\beta$ -Amyloid Peptide Binding by the Antibody Ponezumab for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J Mol Biol.* 2012;421(4–5):525–36.
86. Bales KR, O'Neill SM, Pozdnyakov N, Pan F, Caouette D, Pi Y, et al. Passive immunotherapy targeting amyloid- $\beta$  reduces cerebral amyloid angiopathy and improves vascular reactivity. *Brain.* 2016;139(2):563–77.
87. Lannfelt L, Möller C, Basun H, Osswald G, Sehlin D, Satlin A, et al. Perspectives on future Alzheimer therapies: amyloid- $\beta$  protofibrils - a new target for immunotherapy with BAN2401 in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2014;6(2):16.
88. Logovinsky V, Satlin A, Lai R, Swanson C, Kaplow J, Osswald G, et al. Safety and tolerability of BAN2401 - a clinical study in Alzheimer's disease with a protofibril selective A $\beta$  antibody. *Alzheimers Res Ther.* 2016;8(1):14.
89. Pradier L, Cohen C, Blanchard V, Debeir T, Barneoud P, Canton T, et al. SAR228810: An antiprotofibrillar beta-amyloid antibody designed to reduce risk of amyloid-related imaging abnormalities (ARIA). *Alzheimer's Dement.* 2013;9(4):P808–9.
90. MEDI1814 | ALZFORUM. [cited 2017 Apr 8]. <http://www.alzforum.org/therapeutics/medi1814>
91. DeMattos RB, Lu J, Tang Y, Racke MM, DeLong CA, Tzaferis JA, et al. A Plaque-Specific Antibody Clears Existing  $\beta$ -amyloid Plaques in Alzheimer's Disease Mice. *Neuron.* 2012;76(5):908–20.
92. Relkin N. Intravenous immunoglobulin for Alzheimer's disease. *Clin Exp Immunol.* 2014;(Suppl 1):27–9.
93. Loeffler DA. Intravenous immunoglobulin and Alzheimer's disease: what now? *J Neuroinflammation.* 2013;10(1):853.

94. Dodel R, Rominger A, Bartenstein P, Barkhof F, Blennow K, Förster S, et al. Intravenous immunoglobulin for treatment of mild-to-moderate Alzheimer's disease: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-finding trial. *Lancet Neurol*. 2013;12(3):233–43.
95. The intermediate results from the Grifols AMBAR study support its continuation. [cited 2017 Mar 12]. <https://www.grifols.com/en/web/international/view-news/-/new/the-intermediate-results-from-the-grifols-ambar-study-support-its-continuation>
96. Andreasen N, Simeoni M, Ostlund H, Lisjo PI, Fladby T, Loercher AE, et al. First Administration of the Fc-Attenuated Anti- $\beta$  Amyloid Antibody GSK933776 to Patients with Mild Alzheimer's Disease: A Randomized, Placebo-Controlled Study. Riedel WJ, editor. *PLoS One*. 2015;10(3):e0098153.
97. Delnomdedieu M, Duvvuri S, Li DJ, Atassi N, Lu M, Brashear HR, et al. First-In-Human safety and long-term exposure data for AAB-003 (PF-05236812) and biomarkers after intravenous infusions of escalating doses in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2016;8(1):12.
98. MacLeod R, Hillert E-K, Cameron RT, Baillie GS. The role and therapeutic targeting of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -secretase in Alzheimer's disease. *Futur Sci OA*. 2015;1(3):fso.15.9.
99. Weggen S, Eriksen JL, Das P, Sagi SA, Wang R, Pietrzik CU, et al. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic A $\beta$ 42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature*. 2001;414(6860):212–6.
100. Weggen S, Eriksen JL, Sagi SA, Pietrzik CU, Ozols V, Fauq A, et al. Evidence that nonsteroidal anti-inflammatory drugs decrease amyloid beta 42 production by direct modulation of gamma-secretase activity. *J Biol Chem*. 2003;278(34):31831–7.
101. Eriksen JL, Sagi SA, Smith TE, Weggen S, Das P, McLendon DC, et al. NSAIDs and enantiomers of flurbiprofen target  $\gamma$ -secretase and lower A $\beta$ 42 in vivo. *J Clin Invest*. 2003;112(3):440–9.
102. Beher D, Clarke EE, Wrigley JDJ, Martin ACL, Nadin A, Churcher I, et al. Selected Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and Their Derivatives Target  $\gamma$ -Secretase at a Novel Site. *J Biol Chem*. 2004;279(42):43419–26.
103. Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG. Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Ther Adv Neurol Disord*. 2013;6(1):19–33.
104. Wilcock GK. Disease-modifying treatments for Alzheimer's disease: A perspective based on experience with R-Flurbiprofen. *Alzheimer's Dement*. 2006;2(3):150–2.
105. Lilly Halts Development of Semagacestat for Alzheimer's Disease Based on Preliminary Results of Phase III Clinical Trials. 2010 [cited 2017 Apr 9]. <https://investor.lilly.com/releasedetail.cfm?releaseid=499794>
106. Doody RS, Raman R, Farlow M, Iwatsubo T, Vellas B, Joffe S, et al. A Phase 3 Trial of Semagacestat for Treatment of Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2013;369(4):341–50.
107. Grossman H, Marzloff G, Luo X, LeRoith D, Sano M, Pasinetti G. NIC5-15 as a treatment for Alzheimer's: Safety, pharmacokinetics and clinical variables. *Alzheimer's Dement*. 2009;5(4):P259.
108. Pasinetti G, Rosen Z, Grossman H. Nic5-15: a novel natural gamma-secretase inhibitor that attenuates brain beta-amyloid content and improves cognition. *Alzheimer's Dement*. 2009;5(4):e28.
109. Gillman KW, Starrett JE, Parker MF, Xie K, Bronson JJ, Marcin LR, et al. Discovery and Evaluation of BMS-708163, a Potent, Selective and Orally Bioavailable  $\gamma$ -Secretase Inhibitor. *ACS Med Chem Lett*. 2010;1(3):120–4.
110. Tong G, Wang J-S, Sverdllov O, Huang S-P, Slemmon R, Croop R, et al. Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Single-Ascending Dose Study of the Oral  $\gamma$ -Secretase Inhibitor BMS-708163 (Avagacestat): Tolerability Profile, Pharmacokinetic Parameters, and Pharmacodynamic Markers. *Clin Ther*. 2012;34(3):654–67.
111. Tong G, Wang J-S, Sverdllov O, Huang S-P, Slemmon R, Croop R, et al. A contrast in safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics across age groups after a single 50 mg oral dose of the  $\gamma$ -secretase inhibitor avagacestat. *Br J Clin Pharmacol*. 2013;75(1):136–45.
112. Albright CF, Dockens RC, Meredith JE, Olson RE, Slemmon R, Lentz KA, et al. Pharmacodynamics of Selective Inhibition of  $\gamma$ -Secretase by Avagacestat. *J Pharmacol Exp Ther*. 2013;344(3):686–95.
113. Coric V, van Dyck CH, Salloway S, Andreasen N, Brody M, Richter RW, et al. Safety and Tolerability of the  $\gamma$ -Secretase Inhibitor Avagacestat in a Phase 2 Study of Mild to Moderate Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 2012;69(11):1430.
114. Coric V, Salloway S, van Dyck CH, Dubois B, Andreasen N, Brody M, et al. Targeting Prodromal Alzheimer Disease With Avagacestat. *JAMA Neurol*. 2015;72(11):1324.
115. Crump CJ, Castro S V., Wang F, Pozdnyakov N, Ballard TE, Sisodia SS, et al. BMS-708163 Targets Presenilin and Lacks Notch-Sparing Activity. *Biochemistry*. 2012;51(37):7209–11.

116. Hopkins CR. ACS Chemical Neuroscience Molecule Spotlight on ELND006: Another  $\gamma$ -Secretase Inhibitor Fails in the Clinic. *ACS Chem Neurosci*. 2011;2(6):279–80.
117. Vassar R, Kovacs DM, Yan R, Wong PC. The Beta-Secretase Enzyme BACE in Health and Alzheimer's Disease: Regulation, Cell Biology, Function, and Therapeutic Potential. *J Neurosci*. 2009;29(41):12787–94.
118. Qian Q, Mitter SK, Pay SL, Qi X, Rickman CB, Grant MB, et al. A Non-Canonical Role for  $\beta$ -Secretase in the Retina. In: *Advances in experimental medicine and biology*. 2016. p. 333–9.
119. Cheret C, Willem M, Fricker FR, Wende H, Wulf-Goldenberg A, Tahirovic S, et al. Bace1 and Neuregulin-1 cooperate to control formation and maintenance of muscle spindles. *EMBO J*. 2013;32(14):2015–28.
120. Laird FM, Cai H, Savonenko A V, Farah MH, He K, Melnikova T, et al. BACE1, a major determinant of selective vulnerability of the brain to amyloid-beta amyloidogenesis, is essential for cognitive, emotional, and synaptic functions. *J Neurosci*. 2005;25(50):11693–709.
121. Yan R. Stepping closer to treating Alzheimer's disease patients with BACE1 inhibitor drugs. *Transl Neurodegener*. 2016;5(1):13.
122. Ghosh AK, Bilcer G, Harwood C, Kawahama R, Shin D, Hussain KA, et al. Structure-based design: potent inhibitors of human brain memapsin 2 (beta-secretase). *J Med Chem*. 2001;44(18):2865–8.
123. Ghosh AK, Brindisi M, Tang J. Developing  $\beta$ -secretase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2012;120(s1):71–83.
124. Bernier F, Sato Y, Matijevic M, Desmond H, McGrath S, Burns L, et al. Clinical study of E2609, a novel BACE1 inhibitor, demonstrates target engagement and inhibition of BACE1 activity in CSF. *Alzheimer's Dement*. 2013;9(4):P886.
125. Albala B, Kaplow JM, Lai R, Matijevic M, Aluri J, Satlin A. CSF amyloid lowering in human volunteers after 14 days' oral administration of the novel BACE1 inhibitor E2609. *Alzheimer's Dement*. 2012;8(4):S743.
126. Lai R, Albala B, Kaplow JM, Aluri J, Yen M, Satlin A. First-in-human study of E2609, a novel BACE1 inhibitor, demonstrates prolonged reductions in plasma beta-amyloid levels after single dosing. *Alzheimer's Dement*. 2012;8(4):P96.
127. Forman M, Kleijn H-J, Dockendorf M, Palcza J, Tseng J, Canales C, et al. The novel BACE inhibitor MK-8931 dramatically lowers CSF beta-amyloid in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2013;9(4):P139.
128. Yoshihara T, Sakamoto K, Matsuki S, Matsuguma K, Uchida N, Azuma F, et al. Assessment of the safety, tolerability, pharmacokinetics, and effects on plasma and cerebrospinal fluid Abeta peptides of AZD3293, a novel BACE1 inhibitor, in healthy japanese adults. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P608–9.
129. Shimizu H, Tritsmans L, Santoh T, Shiraishi A, Takahashi M, Tominaga Y, et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study (54861911ALZ1006) with a BACE Inhibitor, JNJ-54861911, in Healthy Elderly Japanese Subjects. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P612.
130. Russu A, Van Broeck B, Tesseur I, Timmers M, Smekens P, Tritsmans L, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of CSF Abeta1-40 reduction in an early Alzheimer's disease study of JNJ-54861911, an oral BACE1 inhibitor. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P612.
131. Streffer J, Börjesson-Hanson A, Van Broeck B, Smekens P, Timmers M, Tesseur I, et al. Pharmacodynamics of the oral BACE inhibitor JNJ-54861911 in early Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P199–200.
132. Tom Fagan. New Ways to Target A $\beta$  and BACE Show Promising Phase 1 Data | ALZFORUM. [cited 2017 Mar 26]. <http://www.alzforum.org/news/conference-coverage/new-ways-target-av-and-bace-show-promising-phase-1-data>
133. Scott JD, Li SW, Brunskill APJ, Chen X, Cox K, Cumming JN, et al. Discovery of the 3-Imino-1,2,4-thiadiazinane 1,1-Dioxide Derivative Verubecestat (MK-8931) – A $\beta$ -Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 Inhibitor for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J Med Chem*. 2016;59(23):10435–50.
134. Jicha G, Nelson P. Modulation of microRNA pathways by gemfibrozil in predementia Alzheimer disease. [cited 2017 Jun 25]. <http://grantome.com/grant/NIH/R01-AG042419-02>
135. Nelson PT, Wang W-X. MiR-107 is reduced in Alzheimer's disease brain neocortex: validation study. *J Alzheimers Dis*. 2010;21(1):75–9.
136. Decourt B, Drumm-Gurnee D, Wilson J, Jacobson S, Belden C, Sirrel S, et al. Poor Safety and Tolerability Hamper Reaching a Potentially Therapeutic Dose in the Use of Thalidomide for Alzheimer's disease: Results from a Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Curr Alzheimer Res*. 2017;14(999):1–1.

137. May PC, Willis BA, Lowe SL, Dean RA, Monk SA, Cocke PJ, et al. The Potent BACE1 Inhibitor LY2886721 Elicits Robust Central Abeta Pharmacodynamic Responses in Mice, Dogs, and Humans. *J Neurosci.* 2015;35(3):1199–210.
138. Merck Announces EPOCH Study of Verubecestat for the Treatment of People with Mild to Moderate Alzheimer's Disease to Stop for Lack of Efficacy. 2017 [cited 2017 Jul 1]. <http://investors.merck.com/news/press-release-details/2017/Merck-Announces-EPOCH-Study-of-Verubecestat-for-the-Treatment-of-People-with-Mild-to-Moderate-Alzheimers-Disease-to-Stop-for-Lack-of-Efficacy/default.aspx>
139. Clinical Trial - A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study to assess the safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of multiple oral doses of CNP520 in healthy elderly subjects. [cited 2017 Mar 25]. <https://www.novctrd.com/CtrdWeb/displaypdf.nov?trialresultid=15947>
140. Boehringer Ingelheim - Clinical Trial Result for BI 11881181. [cited 2017 Mar 25]. [http://www.trials.boehringer-ingelheim.com/trial\\_results/clinical\\_trials\\_overview/clinical\\_trial\\_result.c=n.i=18.html](http://www.trials.boehringer-ingelheim.com/trial_results/clinical_trials_overview/clinical_trial_result.c=n.i=18.html)
141. ALZFORUM | NETWORKING FOR A CURE. [cited 2017 Mar 25]. <http://www.alzforum.org/>
142. May PC, Dean RA, Lowe SL, Martenyi F, Sheehan SM, Boggs LN, et al. Robust Central Reduction of Amyloid-Beta in Humans with an Orally Available, Non-Peptidic Beta-Secretase Inhibitor. *J Neurosci.* 2011;31(46):16507–16.
143. Yu Q-S, Reale M, Kamal MA, Holloway HW, Luo W, Sambamurti K, et al. Synthesis of the Alzheimer drug Posiphen into its primary metabolic products (+)-N1-norPosiphen, (+)-N8-norPosiphen and (+)-N1, N8-bisnorPosiphen, their inhibition of amyloid precursor protein,  $\alpha$ -Synuclein synthesis, interleukin-1 $\beta$  release, and cholinergic action. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2013;12(2):117–28.
144. QR Pharma, Inc | Posiphen. [cited 2017 Jul 4]. <http://qrpharma.com/innovation/>
145. Maccacchini ML, Chang MY, Pan C, John V, Zetterberg H, Greig NH. Posiphen as a candidate drug to lower CSF amyloid precursor protein, amyloid- $\beta$  peptide and  $\tau$  levels: target engagement, tolerability and pharmacokinetics in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012;83(9):894–902.
146. Maccacchini M, Zhang J, Zetterberg H. Microglia activation in the Alzheimer's brain: Normalization by Posiphen®. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(4):P267.
147. Hoffmann T, Meyer A, Heiser U, Kurat S, Böhme L, Kleinschmidt M, et al. Glutaminy Cyclase Inhibitor PQ912 Improves Cognition in Mouse Models of Alzheimer's Disease-Studies on Relation to Effective Target Occupancy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2017;362(1):119–30.
148. Demuth H, Schilling S, Holger C, Manhart S, Glund K. Inhibition of glutaminy cyclase targeting Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(4):P260.
149. Schilling S, Zeitschel U, Hoffmann T, Heiser U, Francke M, Kehlen A, et al. Glutaminy cyclase inhibition attenuates pyroglutamate A $\beta$  and Alzheimer's disease-like pathology. *Nat Med.* 2008;14(10):1106–11.
150. Pastrak A, Connop B, Copeman J, Slon-Usakiewicz JJ. A sensitive assay measuring the binding of amyloid-beta monomers to aggregates reveals the potential of ELND005 (scylloinositol) to reduce and reverse amyloid accumulation. *Alzheimer's Dement.* 2009;5(4):P415.
151. Salloway S, Sperling R, Keren R, Porsteinsson AP, van Dyck CH, Tariot PN, et al. A phase 2 randomized trial of ELND005, scyllo-inositol, in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology.* 2011;77(13):1253–62.
152. McLaurin J, Shaw J, Nemieboka N, Koellhoeffer E, Inouye H, Kirschner D, et al. Biophysical characterization of scyllo-inositol-A $\beta$  interactions. *Alzheimer's Dement.* 2009;5(4).
153. Porsteinsson A, Sperling R, Salloway S, Keren R, van Dyck C, Tariot P, et al. Imaging and cerebrospinal fluid biomarker results of a phase II dose-ranging study of ELND005 (Scyllo-inositol) in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2011;7(4):S695.
154. Liang E, Tariot P, Abushakra S, Porsteinsson A, Hernandez R, Crans G, et al. Effects of oral ELND005 (Scyllo-inositol) on brain scyllo-inositol and myo-inositol levels: Spectroscopy results from a phase 2 study in MILD-TO-MODERATE Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(4):S783–4.
155. Abushakra SR, Kesslak P, Kurth M, Fan F, Bairu M, Miller DS, et al. Drug development for agitation and aggression in Alzheimer's disease (AD): study design and outcome measures in phase 2 study of scyllo-inositol (ELND005 study AG201). *Alzheimer's Dement.* 2014;10(4):P458.
156. Lyketsos C, Abushakra S, Liang E, Hernandez R, Tariot P, Porsteinsson A, et al. Effects of oral ELND005 (scyllo-inositol) on neuropsychiatric symptoms in a 78-week phase 2 study in mild/moderate Alzheimer's disease (AD): Potential role of myo-inositol reduction. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(4):S771–2.



157. Salloway S, Porsteinsson A, Sperling R, Keren R, van Dyck C, Tariot P, et al. Safety and efficacy results of a phase II randomized, placebo-controlled, dose-ranging study of ELND005 (scyllo-inositol) in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2011;7(4):S472.
158. Keller D. Novel Oligosaccharide Shows Benefits in Alzheimer's. 2014 [cited 2017 Apr 10]. [http://www.medscape.com/viewarticle/835968#vp\\_1](http://www.medscape.com/viewarticle/835968#vp_1)
159. Hori Y, Takeda S, Cho H, Wegmann S, Shoup TM, Takahashi K, et al. A Food and Drug Administration-approved Asthma Therapeutic Agent Impacts Amyloid  $\beta$  in the Brain in a Transgenic Model of Alzheimer Disease. *J Biol Chem.* 2015;290(4):1966–78.
160. Chang WE, Takeda T, Raman EP, Klimov DK. Molecular dynamics simulations of anti-aggregation effect of ibuprofen. *Biophys J.* 2010;98(11):2662–70.
161. Caltagirone C, Ferrannini L, Marchionni N, Nappi G, Scapagnini G, Trabucchi M. The potential protective effect of tramiprosate (homotaurine) against Alzheimer's disease: a review. *Aging Clin Exp Res.* 24(6):580–7.
162. McCaffrey P. Experts Slam Marketing of Tramiprosate (Alzhemed) as Nutraceutical | ALZFORUM. 2008 [cited 2017 Jul 1]. <http://www.alzforum.org/news/research-news/experts-slam-marketing-tramiprosate-alzhemed-nutraceutical>
163. Alzheon Pipeline. [cited 2017 Jul 1]. <https://alzheon.com/alzheon-pipeline/>
164. Transition Therapeutics Announces Results of Data Analysis from ELND005 Phase 2/3 Clinical Study in Agitation and Aggression in Alzheimer's Disease Patients. 2015 [cited 2017 Apr 11]. [http://transitiontherapeutics.com/media/press\\_releases/20151015.pdf](http://transitiontherapeutics.com/media/press_releases/20151015.pdf)
165. Golde TE, Lewis J, McFarland NR. Anti-Tau Antibodies: Hitting the Target. *Neuron.* 2013;80(2):254–6.
166. Pedersen JT, Sigurdsson EM. Tau immunotherapy for Alzheimer's disease. *Trends Mol Med.* 2015;21(6):394–402.
167. Bakota L, Brandt R. Tau Biology and Tau-Directed Therapies for Alzheimer's Disease. *Drugs.* 2016;76(3):301–13.
168. Kontsekova E, Zilka N, Kovacech B, Novak P, Novak M. First-in-man tau vaccine targeting structural determinants essential for pathological tau–tau interaction reduces tau oligomerisation and neurofibrillary degeneration in an Alzheimer's disease model. *Alzheimers Res Ther.* 2014;6(4):44.
169. Novak P, Zilka N, Kontsekova E, Ondrus M, Novak M. Characterisation of the antibody response to AADvac1: the first-in-kind active vaccine against neurofibrillary tau pathology. *Alzheimer's Dement.* 2016;12(7):P351.
170. Novak P, Schmidt R, Kontsekova E, Zilka N, Kovacech B, Skrabana R, et al. Safety and immunogenicity of the tau vaccine AADvac1 in patients with Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet Neurol.* 2017;16(2):123–34.
171. Theunis C, Crespo-Biel N, Gafner V, Pihlgren M, López-Deber MP, Reis P, et al. Efficacy and safety of a liposome-based vaccine against protein Tau, assessed in tau.P301L mice that model tauopathy. *PLoS One.* 2013;8(8):e72301.
172. ICTRP - International Clinical Trials Registry Platform. [cited 2017 Mar 28]. <http://apps.who.int/trialsearch/>
173. ISRCTN Registry. [cited 2017 Mar 28]. <http://www.isrctn.com/>
174. C2N 8E12 | ALZFORUM. [cited 2017 Apr 22]. <http://www.alzforum.org/therapeutics/c2n-8e12>
175. RG7345 | ALZFORUM. [cited 2017 Mar 28]. <http://www.alzforum.org/therapeutics/rg7345>
176. Corrêa-Velloso J da C, Gonçalves MCB, Naaldijk Y, Oliveira-Giacomelli Á, Pillat MM, Ulrich H. Pathophysiology in the comorbidity of Bipolar Disorder and Alzheimer's Disease: Pharmacological and stem cells approaches. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2017;
177. Forlenza O V., De-Paula VJR, Diniz BSO. Neuroprotective Effects of Lithium: Implications for the Treatment of Alzheimer's Disease and Related Neurodegenerative Disorders. *ACS Chem Neurosci.* 2014;5(6):443–50.
178. Nunes MA, Viel TA, Buck HS. Microdose lithium treatment stabilized cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2013;10(1):104–7.
179. Vosahlikova M, Svoboda P. Lithium - therapeutic tool endowed with multiple beneficiary effects caused by multiple mechanisms. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2016;76(1):1–19.
180. Liu C, Götz J. How it all started: tau and protein phosphatase 2A. *J Alzheimers Dis.* 2013;37(3):483–94.

181. Corcoran NM, Martin D, Hutter-Paier B, Windisch M, Nguyen T, Nheu L, et al. Sodium selenate specifically activates PP2A phosphatase, dephosphorylates tau and reverses memory deficits in an Alzheimer's disease model. Vol. 17, *Journal of Clinical Neuroscience*. 2010.
182. Malpas CB, Vivash L, Genc S, Saling MM, Desmond P, Steward C, et al. A Phase IIa Randomized Control Trial of VEL015 (Sodium Selenate) in Mild-Moderate Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis*. 2016;54(1):223–32.
183. Zhang X-Z, Li X-J, Zhang H-Y. Valproic acid as a promising agent to combat Alzheimer's disease. *Brain Res Bull*. 2010;81(1):3–6.
184. Tariot PN, Schneider LS, Cummings J, Thomas RG, Raman R, Jakimovich LJ, et al. Chronic Divalproex Sodium to Attenuate Agitation and Clinical Progression of Alzheimer Disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2011;68(8):853.
185. Herrmann N, Lanctôt KL, Rothenburg LS, Eryavec G. A Placebo-Controlled Trial of Valproate for Agitation and Aggression in Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006;23(2):116–9.
186. Fleisher AS, Truran D, Mai JT, Langbaum JBS, Aisen PS, Cummings JL, et al. Chronic divalproex sodium use and brain atrophy in Alzheimer disease. *Neurology*. 2011;77(13):1263–71.
187. Lovestone S, Boada M, Dubois B, Hüll M, Rinne JO, Huppertz H-J, et al. A phase II trial of tideglusib in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2015;45(1):75–88.
188. del Ser T, Steinwachs KC, Gertz HJ, Andrés M V, Gómez-Carrillo B, Medina M, et al. Treatment of Alzheimer's disease with the GSK-3 inhibitor tideglusib: a pilot study. *J Alzheimers Dis*. 2013;33(1):205–15.
189. Tolosa E, Litvan I, Höglinger GU, Burn D, Lees A, Andrés M V., et al. A phase 2 trial of the GSK-3 inhibitor tideglusib in progressive supranuclear palsy. *Mov Disord*. 2014;29(4):470–8.
190. Wischik CM, Harrington CR, Storey JMD. Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol*. 2014;88(4):529–39.
191. Wischik CM, Edwards PC, Lai RY, Roth M, Harrington CR. Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(20):11213–8.
192. Gauthier S, Feldman HH, Schneider LS, Wilcock GK, Frisoni GB, Hardlund JH, et al. Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer's disease: a randomised, controlled, double-blind, parallel-arm, phase 3 trial. *Lancet*. 2016;388(10062):2873–84.
193. Fagan T. In First Phase 3 Trial, the Tau Drug LMTM Did Not Work. Period. | ALZFORUM. [cited 2017 Apr 1]. <http://www.alzforum.org/news/conference-coverage/first-phase-3-trial-tau-drug-lmtm-did-not-work-period>
194. Gauthier S, Feldman HH, Schneider LS, Wilcock G, Frisoni GB, Hardlund J, et al. Phase 3 trial of the tau aggregation inhibitor leuco-methylthioninium-bis(hidromethanesulfonate) (LMTM) in mild to moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P351–2.
195. Harrington CR, Storey JMD, Clunas S, Harrington KA, Horsley D, Ishaq A, et al. Cellular Models of Aggregation-dependent Template-directed Proteolysis to Characterize Tau Aggregation Inhibitors for Treatment of Alzheimer Disease. *J Biol Chem*. 2015;290(17):10862–75.
196. Fitzgerald DP, Emerson DL, Qian Y, Anwar T, Liewehr DJ, Steinberg SM, et al. TPI-287, a New Taxane Family Member, Reduces the Brain Metastatic Colonization of Breast Cancer Cells. *Mol Cancer Ther*. 11(9):1959–67.
197. Imbimbo BP. An update on the efficacy of non-steroidal anti-inflammatory drugs in Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs*. 2009;18(8):1147–68.
198. Lorente-Cebrián S, Costa AG V., Navas-Carretero S, Zabala M, Laiglesia LM, Martínez JA, et al. An update on the role of omega-3 fatty acids on inflammatory and degenerative diseases. *J Physiol Biochem*. 2015;71(2):341–9.
199. Devassy JG, Leng S, Gabbs M, Monirujjaman M, Aukema HM. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Oxylipins in Neuroinflammation and Management of Alzheimer Disease. *Adv Nutr An Int Rev J*. 2016;7(5):905–16.
200. Heras-Sandoval D, Pedraza-Chaverri J, Pérez-Rojas JM. Role of docosahexaenoic acid in the modulation of glial cells in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*. 2016;13(1):61.
201. Burckhardt M, Herke M, Wustmann T, Watzke S, Langer G, Fink A. Omega-3 fatty acids for the treatment of dementia. In: Burckhardt M, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2016. p. CD009002.

202. Song C, Shieh C-H, Wu Y-S, Kalueff A, Gaikwad S, Su K-P. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the treatment of major depression and Alzheimer's disease: Acting separately or synergistically? *Prog Lipid Res.* 2016;62:41–54.
203. Gomes M, Negrato C. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases. *Diabetol Metab Syndr.* 2014;6(1):80.
204. Zhang Y, Chen J, Qiu J, Li Y, Wang J, Jiao J. Intakes of fish and polyunsaturated fatty acids and mild-to-severe cognitive impairment risks: a dose-response meta-analysis of 21 cohort studies. *Am J Clin Nutr.* 2016;103(2):330–40.
205. de Souza Fernandes DP, Canaan Rezende FA, Pereira Rocha G, De Santis Filgueiras M, Silva Moreira PR, Gonçalves Alfenas R de C. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid supplementations to control cognitive decline in dementia and Alzheimer's disease: a systematic review. *Nutr Hosp.* 2015;32(2):528–33.
206. Goozee KG, Shah TM, Sohrabi HR, Rainey-Smith SR, Brown B, Verdile G, et al. Examining the potential clinical value of curcumin in the prevention and diagnosis of Alzheimer's disease. *Br J Nutr.* 2016;115(3):449–65.
207. Cheng X, Shen Y, Li R. Targeting TNF: a therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Drug Discov Today.* 2014;19(11):1822–7.
208. Tobinick E. Perispinal etanercept: a new therapeutic paradigm in neurology. *Expert Rev Neurother.* 2010;10(6):985–1002.
209. Tobinick EL, Gross H. Rapid cognitive improvement in Alzheimer's disease following perispinal etanercept administration. *J Neuroinflammation.* 2008;5(1):2.
210. Tobinick E, Gross H, Weinberger A, Cohen H. TNF-alpha modulation for treatment of Alzheimer's disease: a 6-month pilot study. *MedGenMed.* 2006;8(2):25.
211. Butchart J, Brook L, Hopkins V, Teeling J, Puntener U, Culliford D, et al. Etanercept in Alzheimer disease: A randomized, placebo-controlled, double-blind, phase 2 trial. *Neurology.* 2015;84(21):2161–8.
212. Möller T, Bard F, Bhattacharya A, Biber K, Campbell B, Dale E, et al. Critical data-based re-evaluation of minocycline as a putative specific microglia inhibitor. *Glia.* 2016;64(10):1788–94.
213. Biscaro B, Lindvall O, Tesco G, Ekdahl CT, Nitsch RM. Inhibition of Microglial Activation Protects Hippocampal Neurogenesis and Improves Cognitive Deficits in a Transgenic Mouse Model for Alzheimer's Disease. *Neurodegener Dis.* 2012;9(4):187–98.
214. El-Shimy IA, Heikal OA, Hamdi N. Minocycline attenuates A $\beta$  oligomers-induced pro-inflammatory phenotype in primary microglia while enhancing A $\beta$  fibrils phagocytosis. *Neurosci Lett.* 2015;609:36–41.
215. Chen S-D, Yin J-H, Hwang C-S, Tang C-M, Yang D-I. Anti-apoptotic and anti-oxidative mechanisms of minocycline against sphingomyelinase/ceramide neurotoxicity: implication in Alzheimer's disease and cerebral ischemia. *Free Radic Res.* 2012;46(8):940–50.
216. Diguët E, Gross CE, Tison F, Bezard E. Rise and fall of minocycline in neuroprotection: need to promote publication of negative results. *Exp Neurol.* 2004;189(1):1–4.
217. Bastianetto S, Ménard C, Quirion R. Neuroprotective action of resveratrol. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2015;1852(6):1195–201.
218. Turner RS, Thomas RG, Craft S, van Dyck CH, Mintzer J, Reynolds BA, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of resveratrol for Alzheimer disease. *Neurology.* 2015;85(16):1383–91.
219. Cao H, Pan X, Li C, Zhou C, Deng F, Li T. Density functional theory calculations for resveratrol. *Bioorg Med Chem Lett.* 2003;13(11):1869–71.
220. Singh NA, Mandal AKA, Khan ZA. Potential neuroprotective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Nutr J.* 2015;15(1):60.
221. Afzal M, Safer AM, Menon M. Green tea polyphenols and their potential role in health and disease. *Inflammopharmacology.* 2015;23(4):151–61.
222. Davinelli S, Sapere N, Zella D, Bracale R, Intrieri M, Scapagnini G. Pleiotropic Protective Effects of Phytochemicals in Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:1–11.
223. Van Eldik LJ, Carrillo MC, Cole PE, Feuerbach D, Greenberg BD, Hendrix JA, et al. The roles of inflammation and immune mechanisms in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv.* 2016;2(2):99–109.

224. Maurice T, Mustafa M-H, Desrumaux C, Keller E, Naert G, García-Barceló M de la C, et al. Intranasal formulation of erythropoietin (EPO) showed potent protective activity against amyloid toxicity in the A $\beta$ <sub>25-35</sub> non-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Psychopharmacol*. 2013;27(11):1044–57.
225. Merelli A, Czornyj L, Lazarowski A. Erythropoietin as a new therapeutic opportunity in brain inflammation and neurodegenerative diseases. *Int J Neurosci*. 2015;125(11):793–7.
226. Rodríguez Cruz Y, Strehaiano M, Rodríguez Obaya T, García Rodríguez JC, Maurice T. An Intranasal Formulation of Erythropoietin (Neuro-EPO) Prevents Memory Deficits and Amyloid Toxicity in the APPSwe Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis*. 2016;55(1):231–48.
227. Garcia-Rodriguez JC, Sosa Teste I. The Nasal Route as a Potential Pathway for Delivery of Erythropoietin in the Treatment of Acute Ischemic Stroke in Humans. *Sci World J*. 2009;9:970–81.
228. Duffy JP, Harrington EM, Salituro FG, Cochran JE, Green J, Gao H, et al. The Discovery of VX-745: A Novel and Selective p38 $\alpha$  Kinase Inhibitor. *ACS Med Chem Lett*. 2011;2(10):758–63.
229. EIP Pharma announces positive results with neflamapimod (VX-745) in two Phase 2a clinical trials in patients with Early Alzheimer's Disease. 2016 [cited 2017 Jun 11]. <http://www.eippharma.com/contact-and-news.html>
230. ADAPT Research Group, Meinert CL, McCaffrey LD, Breitner JCS. Alzheimer's Disease Anti-Inflammatory Prevention Trial: Design, methods, and baseline results. *Alzheimer's Dement*. 2009;5(2):93–104.
231. Aisen PS, Schafer KA, Grundman M, Pfeiffer E, Sano M, Davis KL, et al. Effects of Rofecoxib or Naproxen vs Placebo on Alzheimer Disease Progression. *JAMA*. 2003;289(21):2819.
232. FDA Approved Drug Products - SARGRAMOSTIM. [cited 2017 Jul 9]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=BasicSearch.process>
233. Sabbagh MN, Agro A, Bell J, Aisen PS, Schweizer E, Galasko D. PF-04494700, an Oral Inhibitor of Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE), in Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2011;25(3):206–12.
234. Sabbagh MN, Bell J, Agro A, Aisen P, Galasko D. An oral antagonist of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) is safe and well-tolerated in the treatment of Alzheimer's disease: Results from a phase II study. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc*. 2008;4(4):T788.
235. Sabbagh MN, Burstein A, Grimes I, Valcarce C, Rose E, Doody RS, et al. Ttp488: From futile to fast track. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(7):P290.
236. Burstein AH, Dunn I, Soeder T, Sabbagh MN, Altstiel LD. Azeliragon phase 2b survival analysis supports beneficial effects on delaying time to cognitive deterioration in patients with mild Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P352.
237. Paris D, Bachmeier C, Patel N, Quadros A, Volmar C-H, Laporte V, et al. Selective antihypertensive dihydropyridines lower A $\beta$  accumulation by targeting both the production and the clearance of A $\beta$  across the blood-brain barrier. *Mol Med*. 2011;17(3–4):149–62.
238. Mullan M, Bachmeier C, Ait-Ghezala G, Beaulieu-Abdelahad D, Crawford F, Abdullah L, et al. Mechanism of action of new Alzheimer's therapeutic in phase III clinical trials. *Alzheimer's Dement*. 2011;7(4).
239. Lawlor B, Kennelly S, O'Dwyer S, Cregg F, Walsh C, Coen R, et al. NILVAD protocol: a European multicentre double-blind placebo-controlled trial of nilvadipine in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *BMJ Open*. 2014;4(10):e006364.
240. Kennelly SP, Abdullah L, Paris D, Parish J, Mathura V, Mullan M, et al. Demonstration of safety in Alzheimer's patients for intervention with an anti-hypertensive drug Nilvadipine: results from a 6-week open label study. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2011;26(10):1038–45.
241. Adlard PA, Cherny RA, Finkelstein DI, Gautier E, Robb E, Cortes M, et al. Rapid Restoration of Cognition in Alzheimer's Transgenic Mice with 8-Hydroxy Quinoline Analogs Is Associated with Decreased Interstitial A $\beta$ . *Neuron*. 2008;59(1):43–55.
242. IMAGINE Trial | Prana Biotechnology. [cited 2017 May 19]. <http://pranabio.com/research-and-development/ imagine-trial/#.WR57qWjyIU>
243. Hudson SA, Tabet N. Acetyl-L-carnitine for dementia. In: Hudson SA, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2003. p. CD003158.
244. Australian New Zealand Clinical Trials Registry. [cited 2017 May 19]. <http://www.anzctr.org.au/Default.aspx>
245. Cervantes B, Ulatowski LM. Vitamin E and Alzheimer's Disease—Is It Time for Personalized Medicine? *Antioxidants*. 2017;6(3):45.

246. Farina N, Llewellyn D, Isaac MGEKN, Tabet N. Vitamin E for Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment. In: Farina N, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2017. p. CD002854.
247. European Medicines Agency - Circadin. [cited 2017 Jul 9]. [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000695/human\\_med\\_000701.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000695/human_med_000701.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)
248. Laudon M, G Wade A, Farmer M, Harari G, Fund N, Nir T, et al. Add-on prolonged-release melatonin for cognitive function and sleep in mild to moderate Alzheimer's disease: a 6-month, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *Clin Interv Aging*. 2014;9:947.
249. Hareyan A. Trial Of MEM 1003 In Alzheimer's Disease Shows Positive Results | EmaxHealth. 2007 [cited 2017 May 20]. <https://www.emaxhealth.com/91/17066.html?page=2>
250. Gasparini L, Xu H. Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*. 2003;26(8):404–6.
251. Gralle M. The neuronal insulin receptor in its environment. *J Neurochem*. 2017;140(3):359–67.
252. Ahmed S, Mahmood Z, Zahid S. Linking insulin with Alzheimer's disease: emergence as type III diabetes. *Neurol Sci*. 2015;36(10):1763–9.
253. De Felice FG. Alzheimer's disease and insulin resistance: translating basic science into clinical applications. *J Clin Invest*. 2013;123(2):531–9.
254. Giuffrida ML, Tomasello F, Caraci F, Chiechio S, Nicoletti F, Copani A. Beta-Amyloid Monomer and Insulin/IGF-1 Signaling in Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol*. 2012;46(3):605–13.
255. Kleinridders A, Ferris HA, Cai W, Kahn CR. Insulin Action in Brain Regulates Systemic Metabolism and Brain Function. *Diabetes*. 2014;63(7):2232–43.
256. Liu Y, Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong C-X. Deficient brain insulin signalling pathway in Alzheimer's disease and diabetes. *J Pathol*. 2011;225(1):54–62.
257. Deng Y, Li B, Liu Y, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Gong C-X. Dysregulation of Insulin Signaling, Glucose Transporters, O-GlcNAcylation, and Phosphorylation of Tau and Neurofilaments in the Brain. *Am J Pathol*. 2009;175(5):2089–98.
258. European Medicines Agency - Pioglitazone. [cited 2017 May 13]. [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/epar\\_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&source=homeMedSearch&keyword=Pioglitazone&category=human&isNewQuery=true](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/epar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&source=homeMedSearch&keyword=Pioglitazone&category=human&isNewQuery=true)
259. FDA Approved Drug Products - Pioglitazone.
260. Geldmacher DS, Fritsch T, McClendon MJ, Landreth G. A Randomized Pilot Clinical Trial of the Safety of Pioglitazone in Treatment of Patients With Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 2011;68(1):45–50.
261. Walker D, Lue LF, Paul G, Patel A, Sabbagh MN. Receptor for advanced glycation endproduct modulators: a new therapeutic target in Alzheimer's disease. *Expert Opin Investig Drugs*. 2015;24(3):393–9.
262. Didsbury J. Rapid onset of cognitive improvements in a subject of mild and moderate Alzheimer's patients treated with T3D-959: interim results of a phase 2a open label clinical trial. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P1187.
263. Gejl M, Gjedde A, Egeffjord L, Møller A, Hansen SB, Vang K, et al. In Alzheimer's Disease, 6-Month Treatment with GLP-1 Analog Prevents Decline of Brain Glucose Metabolism: Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Clinical Trial. *Front Aging Neurosci*. 2016;8:108.
264. Sebastião I, Candeias E, Santos MS, de Oliveira CR, Moreira PI, Duarte AI. Insulin as a Bridge between Type 2 Diabetes and Alzheimer Disease - How Anti-Diabetics Could be a Solution for Dementia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014;5:110.
265. Kuan Y-C, Huang K-W, Lin C-L, Hu C-J, Kao C-H. Effects of metformin exposure on neurodegenerative diseases in elderly patients with type 2 diabetes mellitus. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2017;79(Pt B):77–83.
266. Reger MA, Watson GS, Green PS, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA, et al. Intranasal insulin administration dose-dependently modulates verbal memory and plasma amyloid-beta in memory-impaired older adults. *J Alzheimers Dis*. 2008;13(3):323–31.
267. BENEDICT C, Hallschmid M, Hatke A, Schultes B, Fehm HL, Born J, et al. Intranasal insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology*. 2004;29(10):1326–34.
268. Craft S, Reger M, Baker LD, Watson GS, Fishel M, Cholerton B, et al. Therapeutic effects of daily intranasal insulin administration in early Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2006;2(3):S63.

269. Craft S, Baker LD, Montine TJ, Zhang J, Watson GS, Plymate S, et al. Intranasal Insulin- And Biomarker-associated Improvement in Memory and Functional Status in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: Results of a Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Pilot Trial. *Alzheimer's Dement.* 2010;6(4):e18.
270. Craft S, Baker LD, Montine TJ, Minoshima S, Watson GS, Claxton A, et al. Intranasal Insulin Therapy for Alzheimer Disease and Amnesic Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol.* 2012;69(1):29.
271. Claxton A, Baker LD, Wilkinson CW, Trittschuh EH, Chapman D, Watson GS, et al. Sex and ApoE genotype differences in treatment response to two doses of intranasal insulin in adults with mild cognitive impairment or Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2013;35(4):789–97.
272. FDA Approved Drug Products - rosiglitazone.
273. European Medicines Agency - Rosiglitazone. [cited 2017 May 13]. [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages%2Fmedicines%2Flanding%2Fepar\\_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&searchTab=searchByKey&alreadyLoaded=true&isNewQuery=true&status=Authorized&status=Withdrawn&status=Suspended&status=Refused&keyword=rosiglitaz](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages%2Fmedicines%2Flanding%2Fepar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&searchTab=searchByKey&alreadyLoaded=true&isNewQuery=true&status=Authorized&status=Withdrawn&status=Suspended&status=Refused&keyword=rosiglitaz)
274. Risner ME, Saunders AM, Altman JFB, Ormandy GC, Craft S, Foley IM, et al. Efficacy of rosiglitazone in a genetically defined population with mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Pharmacogenomics J.* 2006;6(4):246–54.
275. Gold M, Alderton C, Zvartau-Hind M, Egginton S, Saunders AM, Irizarry M, et al. Rosiglitazone Monotherapy in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease: Results from a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Study. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;30(2):131–46.
276. Harrington C, Sawchak S, Chiang C, Davies J, Donovan C, Saunders AM, et al. Rosiglitazone does not improve cognition or global function when used as adjunctive therapy to AChE inhibitors in mild-to-moderate Alzheimer's disease: two phase 3 studies. *Curr Alzheimer Res.* 2011;8(5):592–606.
277. Claxton A, Baker L, Hanson A, Cholerton B, Trittschuh E, Morgan A, et al. Long-acting intranasal insulin detemir improves working memory for adults with mild cognitive impairment or early-stage Alzheimer's dementia. *Alzheimer's Dement.* 2013;9(4).
278. Craft S, Claxton A, Baker L, Cholerton B, Hanson A, Callaghan M, et al. Therapeutic effects of long-acting intranasal insulin detemir for Alzheimer's dementia or mild cognitive impairment. *Alzheimer's Dement.* 2013;9(4):P139–40.
279. Schmidt V, Carlo A-S, Willnow TE. Apolipoprotein E receptor pathways in Alzheimer disease. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2014;6(3):255–70.
280. Mandrekar-Colucci S, Karlo JC, Landreth GE. Mechanisms Underlying the Rapid Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Mediated Amyloid Clearance and Reversal of Cognitive Deficits in a Murine Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 2012;32(30):10117–28.
281. Daneschvar HL, Aronson MD, Smetana GW. Do statins prevent Alzheimer's disease? A narrative review. *Eur J Intern Med.* 2015;26(9):666–9.
282. Doody RS, Demirovic J, Ballantyne CM, Chan W, Barber R, Powell S, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, homocysteine, and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit.* 2015;1(4):464–71.
283. Bexarotene | FDA Approved Drug Products.
284. European Medicines Agency - Targretin. [cited 2017 May 20]. [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000326/human\\_med\\_001078.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000326/human_med_001078.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)
285. LaClair KD, Manaye KF, Lee DL, Allard JS, Savonenko A V, Troncoso JC, et al. Treatment with bexarotene, a compound that increases apolipoprotein-E, provides no cognitive benefit in mutant APP/PS1 mice. *Mol Neurodegener.* 2013;8(1):18.
286. Cummings JL, Zhong K, Kinney JW, Heaney C, Moll-Tudla J, Joshi A, et al. Double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept trial of bexarotene in moderate Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2016;8(1):4.
287. O'Hare E, Jeggo R, Kim E-M, Barbour B, Walczak J-S, Palmer P, et al. Lack of support for bexarotene as a treatment for Alzheimer's disease. *Neuropharmacology.* 2016;100:124–30.
288. Zhang H. New insights into huperzine A for the treatment of Alzheimer's disease. *Acta Pharmacol Sin.* 2012;33(9):1170–5.
289. Yang L, Ye C-Y, Huang X-T, Tang X-C, Zhang H-Y. Decreased accumulation of subcellular amyloid- $\beta$  with improved mitochondrial function mediates the neuroprotective effect of huperzine A. *J Alzheimers Dis.* 2012;31(1):131–42.

290. Huang X-T, Qian Z-M, He X, Gong Q, Wu K-C, Jiang L-R, et al. Reducing iron in the brain: a novel pharmacologic mechanism of huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2014;35(5):1045–54.
291. Yang G, Wang Y, Tian J, Liu J-P. Huperzine A for Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. Scherer RW, editor. *PLoS One*. 2013;8(9):e74916.
292. PipeLine Neurodyn - Memogain. [cited 2017 May 23]. <http://neurodyn-inc.com/pipeline/>
293. Maelicke A, Hoeffle-Maas A, Ludwig J, Maus A, Samochocki M, Jordis U, et al. Memogain is a Galantamine Pro-drug having Dramatically Reduced Adverse Effects and Enhanced Efficacy. *J Mol Neurosci*. 2010;40(1–2):135–7.
294. Baakman AC, Klaassen E, Kay D, Maelicke A, Groeneveld GJ. Effect on memory and attention of two doses of memogain, a prodrug of galantamine, in healthy subjects. *Alzheimer's Dement*. 2014;10(4):P449–50.
295. Villard V, Espallergues J, Keller E, Vamvakides A, Maurice T. Anti-amnesic and neuroprotective potentials of the mixed muscarinic receptor/sigma1 ligand ANAVEX-273, a novel aminotetrahydrofuran derivative. *J Psychopharmacol*. 2011;25(8):1101–17.
296. ANAVEX 2-73 | Anavex. [cited 2017 May 5]. <http://www.anavex.com/pipeline/anavex-2-73/>
297. Macfarlane S, Cecchi M, Moore D, Maruff P, M. Capiak K, U. Missling C. Safety and Efficacy 31 Week Data of Anavex 2-73 in a Phase 2a Study in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease Patients. | Anavex. Alzheimer's Association International Conference 2016, Toronto, Canada. 2016 [cited 2017 Jul 8]. <http://www.anavex.com/safety-and-efficacy-31-week-data-of-anavex-2-73-in-a-phase-2a-study-in-mild-to-moderate-alzheimers-disease-patients/>
298. Pipeline | Anavex. [cited 2017 May 5]. <http://www.anavex.com/pipeline/>
299. ANAVEX PLUS | Anavex. [cited 2017 May 5]. <http://www.anavex.com/pipeline/anavex-plus/>
300. Winblad B, Giacobini E, Frölich L, Friedhoff LT, Bruinsma G, Becker RE, et al. Phenserine efficacy in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2010;22(4):1201–8.
301. Axonyx Announces That Phenserine Did Not Achieve Significant Efficacy in Phase III Alzheimer's Disease Trial | Business Wire. 2005 [cited 2017 Jul 3]. <http://www.businesswire.com/news/home/20050206005019/en/Axonyx-Announces-Phenserine-Achieve-Significant-Efficacy-Phase>
302. Youdim MBH. Multi Target Neuroprotective and Neurorestorative Anti-Parkinson and Anti-Alzheimer Drugs Ladostigil and M30 Derived from Rasagiline. *Exp Neurobiol*. 2013;22(1):1.
303. Avraham closes its AD program and concentrates on the development of ladostigil to MCI, due to failure of its clinical trial | Avraham Pharma. [cited 2017 Jul 9]. <http://www.avphar.com/closing-ad-program/>
304. In September 2016, Avraham Pharmaceuticals released the results of its Phase 2 clinical trial for the evaluation of the safety and efficacy of ladostigil, for the treatment of mild cognitive impairment (MCI). [cited 2017 Jul 9]. <http://www.avphar.com/ladostigil/clinical-data/>
305. Lenz RA, Garimella T, Dutta S, Locke C, Baker JD, Wesnes K, et al. ABT-089 demonstrates efficacy in a human model of cognition and good tolerability in subjects with Alzheimer's disease taking acetylcholinesterase inhibitors. *Alzheimer's Dement*. 2009;5(4).
306. Scanio MJC, Shi L, Bunnelle WH, Anderson DJ, Helfrich RJ, Malysz J, et al. Structure–Activity Studies of Diazabicyclo[3.3.0]octane-Substituted Pyrazines and Pyridines as Potent  $\alpha 4\beta 2$  Nicotinic Acetylcholine Receptor Ligands. *J Med Chem*. 2011;54(21):7678–92.
307. Dunbar GC, Kuchibhatla R. Cognitive Enhancement in Man With Ispronicline, A Nicotinic Partial Agonist. *J Mol Neurosci*. 2006;30(1–2):169–72.
308. Lippiello P, Letchworth SR, Gatto GJ, Traina VM, Bencherif M. Ispronicline: A Novel  $\alpha 4\beta 2$  Nicotinic Acetylcholine Receptor-Selective Agonist With Cognition-Enhancing and Neuroprotective Properties. *J Mol Neurosci*. 2006;30(1–2):19–20.
309. Frölich L, Ashwood T, Nilsson J, Eckerwall G, Sirocco Investigators. Effects of AZD3480 on cognition in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: a phase IIb dose-finding study. *J Alzheimers Dis*. 2011;24(2):363–74.
310. Huang M, Felix AR, Kwon S, Lowe D, Wallace T, Santarelli L, et al. The alpha-7 nicotinic receptor partial agonist/5-HT3 antagonist RG3487 enhances cortical and hippocampal dopamine and acetylcholine release. *Psychopharmacology (Berl)*. 2014;231(10):2199–210.

311. Mazurov AA, Miao L, Bhatti BS, Strachan J-P, Akireddy S, Murthy S, et al. Discovery of 3-(5-Chloro-2-furoyl)-3,7-diazabicyclo[3.3.0]octane (TC-6683, AZD1446), a Novel Highly Selective  $\alpha 4\beta 2$  Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist for the Treatment of Cognitive Disorders. *J Med Chem.* 2012;55(21):9181–94.
312. Boström E, Bohnstedt KC, Jostell K-G, Alverlind S, Huledal G, Paulsson B, et al. Population pharmacokinetics and safety of AZD1446, a neuronal nicotinic receptor agonist, administered in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Drug Dev.* 2014;3(1):63–71.
313. Othman A, Meier A, Ritchie CW, Florian H, Gault LM, Tang Q. Efficacy and safety of the  $\alpha 7$  agonist ABT-126 as a monotherapy treatment in mild-to-moderate Alzheimer's dementia: results of a phase 2b trial. *Alzheimer's Dement.* 2014;10(4):P137.
314. Gault LM, Lenz RA, Ritchie CW, Meier A, Othman AA, Tang Q, et al. ABT-126 monotherapy in mild-to-moderate Alzheimer's dementia: randomized double-blind, placebo and active controlled adaptive trial and open-label extension. *Alzheimers Res Ther.* 2016;8(1):44.
315. Gault LM, Meier A, Florian H, Gauthier S, Lin Y, Tang Q, et al. A phase 2 trial of the efficacy and safety of the  $\alpha 7$  agonist ABT-126 as an add-on treatment in mild-to-moderate Alzheimer's dementia. *Alzheimer's Dement.* 2014;10(4):P917–8.
316. Gault LM, Ritchie CW, Robieson WZ, Pritchett Y, Othman AA, Lenz RA. A phase 2 randomized, controlled trial of the  $\alpha 7$  agonist ABT-126 in mild-to-moderate Alzheimer's dementia. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv.* 2015;1(1):81–90.
317. Kim SY, Choi S, Kupiec J, Schwam E, Rollemma H, Jacobsen J, et al. A placebo-controlled crossover trial of the  $\alpha 4\beta 2$  nicotinic acetylcholine receptor partial agonist varenicline in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(4):S768.
318. Hammond FM, Alexander DN, Cutler AJ, D'Amico S, Doody RS, Sauve W, et al. PRISM II: an open-label study to assess effectiveness of dextromethorphan/quinidine for pseudobulbar affect in patients with dementia, stroke or traumatic brain injury. *BMC Neurol.* 2016;16(1):89.
319. Schoenfeld S, Tariot P, Peskind E, Cummings J, Lyketsos C, Nguyen U, et al. Treatment of agitation in people with Alzheimer's dementia: Rationale for the clinical investigation of AVP-923 (dextromethorphan/quinidine). *Alzheimer's Dement.* 2013;9(4):P757.
320. Avanir Pharmaceuticals Announces Initiation of Phase II Study of AVP-786 for the Adjunctive Treatment of Major Depressive Disorder. 2014 [cited 2017 Apr 30]. <http://www.prnewswire.com/news-releases/avanir-pharmaceuticals-announces-initiation-of-phase-ii-study-of-avp-786-for-the-adjunctive-treatment-of-major-depressive-disorder-272700931.html>
321. Cummings JL, Lyketsos C, Peskind ER, Porsteinsson AP, Mintzer JE, Scharre DW, et al. Dextromethorphan/quinidine (AVP-923) for treatment of agitation in patients with Alzheimer's disease: Analysis of week 10 results for patients treated only with AVP-923 versus patients receiving only placebo (NCT01584440). *Alzheimer's Dement.* 2015;11(7):P291–2.
322. Cummings JL, Lyketsos CG, Peskind ER, Porsteinsson AP, Mintzer JE, Scharre DW, et al. Effect of Dextromethorphan-Quinidine on Agitation in Patients With Alzheimer Disease Dementia. *JAMA.* 2015;314(12):1242.
323. Yang LPH, Deeks ED. Dextromethorphan/Quinidine: A Review of Its Use in Adults with Pseudobulbar Affect. *Drugs.* 2015;75(1):83–90.
324. Drugs@FDA: FDA Approved Drug Products. [cited 2017 Apr 30]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&ApplNo=021879>
325. Chumakov I, Nabirovichkin S, Cholet N, Milet A, Boucard A, Toulorge D, et al. Combining two repurposed drugs as a promising approach for Alzheimer's disease therapy. *Sci Rep.* 2015;5(1):7608.
326. PHARNEXT - PXT864. [cited 2017 Apr 30]. <https://www.pharnext.com/fr/produits/pxt864>
327. Calabrese F, Savino E, Mocaer E, Bretin S, Racagni G, Riva MA. Upregulation of neurotrophins by S 47445, a novel positive allosteric modulator of AMPA receptors in aged rats. *Pharmacol Res.* 2017;121:59–69.
328. Moschetti V, Boland K, Feifel U, Hoch A, Zimdahl-Gelling H, Sand M. First-in-human study assessing safety, tolerability and pharmacokinetics of BI 409306, a selective phosphodiesterase 9A inhibitor, in healthy males. *Br J Clin Pharmacol.* 2016;82(5):1315–24.
329. Rosenbrock H, Marti A, Koros E, Runge F, Fuchs H, Giovannini R, et al. Improving synaptic plasticity and cognitive function in rodents by the novel phosphodiesterase 9A inhibitor BI 409306. *Alzheimer's Dement.* 2015;11(7):P612.



330. Boland K, Moschetti V, Dansirikul C, Pichereau S, Gheyle L, Runge F, et al. A phase I, randomized, proof-of-clinical-mechanism study assessing the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral PDE9A inhibitor BI 409306 in healthy male volunteers. *Hum Psychopharmacol Clin Exp*. 2017;32(1):e2569.
331. Grant P, Song JY, Swedo SE. Review of the use of the glutamate antagonist riluzole in psychiatric disorders and a description of recent use in childhood obsessive-compulsive disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2010;20(4):309–15.
332. Hroch L, Benek O, Guest P, Aitken L, Soukup O, Janockova J, et al. Design, synthesis and in vitro evaluation of benzothiazole-based ureas as potential ABAD/17 $\beta$ -HSD10 modulators for Alzheimer's disease treatment. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016;26(15):3675–8.
333. Rammes G. Neramexane: a moderate-affinity NMDA receptor channel blocker: new prospects and indications. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2009;2(3):231–8.
334. Black MD. Therapeutic potential of positive AMPA modulators and their relationship to AMPA receptor subunits. A review of preclinical data. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005;179(1):154–63.
335. Schwam EM, Nicholas T, Chew R, Billing CB, Davidson W, Ambrose D, et al. A multicenter, double-blind, placebo-controlled trial of the PDE9A inhibitor, PF-04447943, in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2014;11(5):413–21.
336. Trillo L, Das D, Hsieh W, Medina B, Moghadam S, Lin B, et al. Ascending monoaminergic systems alterations in Alzheimer's disease. Translating basic science into clinical care. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37(8):1363–79.
337. Wang LY, Shofer JB, Rohde K, Hart KL, Hoff DJ, McFall YH, et al. Prazosin for the Treatment of Behavioral Symptoms in Patients With Alzheimer Disease With Agitation and Aggression. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2009;17(9):744–51.
338. Alzheimer's Disease Cooperative Study (ADCS) - Clinical Trials. [cited 2017 Jul 2]. <http://www.adcs.org/clinical-trials/>
339. Rinne JO, Wesnes K, Cummings JL, Hakulinen P, Hallikainen M, Hänninen J, et al. Tolerability of ORM-12741 and effects on episodic memory in patients with Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv*. 2017;3(1):1–9.
340. Sturm S, Forsberg A, Nave S, Stenkrona P, Seneca N, Varrone A, et al. Positron emission tomography measurement of brain MAO-B inhibition in patients with Alzheimer's disease and elderly controls after oral administration of sebragiline. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44(3):382–91.
341. Borroni E, Bohrmann B, Grueninger F, Prinssen E, Nave S, Loetscher H, et al. Sebragiline: a novel, selective monoamine oxidase type B inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *J Pharmacol Exp Ther*. 2017;jpet.117.241653.
342. NeuroSearch Continues the Development of Tesofensine (NS2330) and Boehringer Ingelheim Returns All Rights to NeuroSearch | Evaluate. 2006 [cited 2017 Jul 6]. <http://www.evaluategroup.com/Universal/View.aspx?type=Story&id=78731>
343. Mohs RC, Shiovitz TM, Tariot PN, Porsteinsson AP, Baker KD, Feldman PD. Atomoxetine augmentation of cholinesterase inhibitor therapy in patients with Alzheimer disease: 6-month, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-trial study. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2009;17(9):752–9.
344. Sallinen J, Holappa J, Koivisto A, Kuokkanen K, Chapman H, Lehtimäki J, et al. Pharmacological Characterisation of a Structurally Novel  $\alpha$ 2C-Adrenoceptor Antagonist ORM-10921 and its Effects in Neuropsychiatric Models. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2013;113(4):239–49.
345. Nave S, Doody RS, Boada M, Grimmer T, Savola J-M, Delmar P, et al. Sebragiline in Moderate Alzheimer's Disease: Results of a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase II Trial (MAYfLower RoAD). *Lancet* K, editor. *J Alzheimer's Dis*. 2017;58(4):1217–28.
346. Ballard C, Mills R, Williams H, Chi-Burris K, Bahr D, Cummings J. Antipsychotic efficacy and good tolerability in a Phase III placebo-controlled study of pimavanserin in patients with Parkinson's disease psychosis (ACP-103-020). *Alzheimer's Dement*. 2013;9(4):P690.
347. Williams H, Bahr D, Peters P, Mills R. Improved nighttime sleep without increased daytime sedation in patients with Parkinson's disease psychosis treated with pimavanserin, a selective 5-HT<sub>2A</sub> antagonist. *Alzheimer's Dement*. 2010;6(4):S478–9.
348. Davis RE, Vanover KE, Zhou Y, Brašić JR, Guevara M, Bisuna B, et al. ITI-007 demonstrates brain occupancy at serotonin 5-HT<sub>2A</sub> and dopamine D<sub>2</sub> receptors and serotonin transporters using positron emission tomography in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232(15):2863–72.

349. Snyder GL, Vanover KE, Zhu H, Miller DB, O'Callaghan JP, Tomesch J, et al. Functional profile of a novel modulator of serotonin, dopamine, and glutamate neurotransmission. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232(3):605–21.
350. Davis RE, Correll CU. ITI-007 in the treatment of schizophrenia: from novel pharmacology to clinical outcomes. *Expert Rev Neurother*. 2016;16(6):601–14.
351. Bozyski KM, Lowe DK, Pasternak KM, Gatesman TL, Crouse EL. Pimavanserin: A Novel Antipsychotic for Parkinson's Disease Psychosis. *Ann Pharmacother*. 2017;106002801769302.
352. Upton N, Chuang TT, Hunter AJ, Virley DJ. 5-HT6 receptor antagonists as novel cognitive enhancing agents for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*. 2008;5(3):458–69.
353. Lombardo I, Ramaswamy G, Piscitelli SC, Friedhoff L. RVT-101, a 5-HT6 receptor antagonist, as adjunctive therapy with donepezil in adults with mild-to-moderate Alzheimer's disease: Responder analysis. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(7):P901.
354. Codony X, Vela JM, Ramírez MJ. 5-HT(6) receptor and cognition. *Curr Opin Pharmacol*. 2011;11(1):94–100.
355. Jayarajan P, Abraham R, Bhyrapuneni G, Benade VS, Ayyanki G, Medapati RB, et al. 5-HT6 antagonist SUVN-502 potentiates the procognitive and neurochemical effects of donepezil and memantine. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(7):P472.
356. Nirogi R, Mudigonda K, Penta KK, Bhyrapuneni G, Ajjala DR, Muddana N, et al. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of a potent and selective 5-HT6 receptor antagonist, SUVN-502, following multiple ascending doses in healthy elderly subjects, and effect of gender and food on single-dose pharmacokinetics. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(7):P748.
357. Wilkinson D, Windfeld K, Colding-Jørgensen E. Safety and efficacy of idalopirdine, a 5-HT6 receptor antagonist, in patients with moderate Alzheimer's disease (LADDER): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Neurol*. 2014;13(11):1092–9.
358. Intepirdine (RVT-101): Mechanism of Action - Axovant Sciences - A Dementia Solutions Company. [cited 2017 Apr 23]. <http://axovant.com/pipeline/intepirdine-rvt-101/mechanism-of-action/>
359. Nirogi R, Mudigonda K, Penta KK, Bhyrapuneni G, Benade V, Muddana N, et al. SUVN-502, potent and pure 5-HT6 receptor antagonist: proof-of-concept study design in moderate Alzheimer's disease patients. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P434.
360. Maher-Edwards G, Dixon R, Hunter J, Gold M, Hopton G, Jacobs G, et al. SB-742457 and donepezil in Alzheimer disease: a randomized, placebo-controlled study. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2011;26(5):536–44.
361. Nirogi R, Kambhampati R, Shinde A, Kandikere V, Mudigonda K, Bhyrapuneni G, et al. SUVN-502: A safe, potent, selective, brain penetrant and orally active 5-HT6 receptor antagonist - first in human clinical phase-1 study. *Alzheimer's Dement*. 2009;5(4):P250.
362. Lombardo I, Ramaswamy G, Piscitelli SC, Friedhoff L. The efficacy of RVT-101, a 5-HT6 receptor antagonist, as an adjunct to donepezil in adults with mild-to-moderate Alzheimer's disease: Completer analysis of a phase 2b study. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(7).
363. Muddana N, Subramanian R, Medapati RB, Abraham R, Benade VS, Raghava V, et al. SUVN-D4010: A novel 5-HT4 receptor partial agonist for the treatment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(7).
364. Porzner M, Müller T, Seufferlein T. SR 57746A/xaliproden, a non-peptide neurotrophic compound: prospects and constraints for the treatment of nervous system diseases. *Expert Opin Investig Drugs*. 2009;18(11):1765–72.
365. Nirogi R, Shinde A, Kambhampati RS, Mohammed AR, Saraf SK, Badange RK, et al. Discovery and Development of 1-[(2-Bromophenyl)sulfonyl]-5-methoxy-3-[(4-methyl-1-piperazinyl)methyl]-1H-indole Dimesylate Monohydrate (SUVN-502): A Novel, Potent, Selective and Orally Active Serotonin 6 (5-HT6) Receptor Antagonist for Potential Treatment of Alzheimer's Disease. *J Med Chem*. 2017;60(5):1843–59.
366. EPIX Pharmaceuticals Assigns All of Its Assets for the Benefit of Creditors. [cited 2017 Apr 23]. <http://www.epixpharma.com/>
367. Shapiro DA, Renock S, Arrington E, Chiodo LA, Liu L-X, Sibley DR, et al. Aripiprazole, A Novel Atypical Antipsychotic Drug with a Unique and Robust Pharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28(8):1400–11.
368. Greig SL. Brexpiprazole: First Global Approval. *Drugs*. 2015;75(14):1687–97.
369. Parikh N, Robinson D, Clayton A. Clinical role of brexpiprazole in depression and schizophrenia. *Ther Clin Risk Manag*. 2017;Volume 13:299–306.

370. De Deyn PP, Drenth AF, Kremer BP, Oude Voshaar RC, Van Dam D. Aripiprazole in the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother*. 2013;14(4):459–74.
371. Rexulti [resumo das características do medicamento]. Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.; 2015.
372. Egan M, Yaari R, Liu L, Ryan M, Peng Y, Lines C, et al. Pilot randomized controlled study of a histamine receptor inverse agonist in the symptomatic treatment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2011;7(4).
373. European Medicines Agency - Abilify. [cited 2017 May 6]. [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000471/human\\_med\\_000619.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000471/human_med_000619.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)
374. Gribkoff VK, Bozik ME. KNS-760704 [(6R)-4,5,6,7-tetrahydro-N6-propyl-2, 6-benzothiazole-diamine dihydrochloride monohydrate] for the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *CNS Neurosci Ther*. 2008;14(3):215–26.
375. Cheah BC, Kiernan MC. Dexpramipexole, the R(+)enantiomer of pramipexole, for the potential treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *IDrugs*. 2010;13(12):911–20.
376. Hu W, Chen Z. The roles of histamine and its receptor ligands in central nervous system disorders: An update. *Pharmacol Ther*. 2017;
377. Babu MR, Muddana N, Mekala VR, Jayarajan P, Kanamarlapudi VB, Faheem MA, et al. SUVN-G3031: a novel and potent histamine H3 receptor antagonist for potential treatment of cognitive deficits. *Alzheimer's Dement*. 2014;10(4):P459–60.
378. Haig GM, Pritchett Y, Meier A, Othman AA, Hall C, Gault LM, et al. A randomized study of H3 antagonist ABT-288 in mild-to-moderate Alzheimer's dementia. *J Alzheimers Dis*. 2014;42(3):959–71.
379. Grove RA, Harrington CM, Mahler A, Beresford I, Maruff P, Lowy MT, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, 16-week study of the H3 receptor antagonist, GSK239512 as a monotherapy in subjects with mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2014;11(1):47–58.
380. Benade VS, Daripelli S, Thentou JB, Manoharan A, Medapati RB, Subramanian R, et al. SUVN-G3031, an H3 receptor inverse agonist, produces procognitive effects without affecting sleep in preclinical models. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(7).
381. Strobel G. Truly New to Déjà Vu: For Five Hopefuls, Lights Go Out After Phase 2 | ALZFORUM. 2015 [cited 2017 Apr 25]. <http://www.alzforum.org/news/conference-coverage/truly-new-deja-vu-five-hopefuls-lights-go-out-after-phase-2>
382. Lambert JJ, Belelli D, Peden DR, Vardy AW, Peters JA. Neurosteroid modulation of GABAA receptors. *Prog Neurobiol*. 2003;71(1):67–80.
383. Reddy DS, Estes WA. Clinical Potential of Neurosteroids for CNS Disorders. *Trends Pharmacol Sci*. 2016;37(7):543–61.
384. Weng J-H, Chung B. Nongenomic actions of neurosteroid pregnenolone and its metabolites. *Steroids*. 2016;111:54–9.
385. Carver CM, Reddy DS. Neurosteroid interactions with synaptic and extrasynaptic GABAA receptors: regulation of subunit plasticity, phasic and tonic inhibition, and neuronal network excitability. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013;230(2):151–88.
386. Froestl W, Gallagher M, Jenkins H, Madrid A, Melcher T, Teichman S, et al. SGS742: the first GABAB receptor antagonist in clinical trials. *Biochem Pharmacol*. 2004;68(8):1479–87.
387. Zhuang S, Wang H-F, Wang X, Li J, Xing C-M. The association of renin-angiotensin system blockade use with the risks of cognitive impairment of aging and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *J Clin Neurosci*. 2016;33:32–8.
388. Liu J, Liu S, Tanabe C, Maeda T, Zou K, Komano H. Differential effects of angiotensin II receptor blockers on A $\beta$  generation. *Neurosci Lett*. 2014;567:51–6.
389. Wharton W, Stein JH, Korcarz C, Sachs J, Olson SR, Zetterberg H, et al. The effects of ramipril in individuals at risk for Alzheimer's disease: results of a pilot clinical trial. *J Alzheimers Dis*. 2012;32(1):147–56.
390. Kanarek AM, Wagner A, Küppers J, Gütschow M, Postina R, Kojro E. Crosstalk between angiotensin and the nonamyloidogenic pathway of Alzheimer's amyloid precursor protein. *FEBS J*. 2017;284(5):742–53.
391. Bishop KM, Hofer EK, Mehta A, Ramirez A, Sun L, Tuszyński M, et al. Therapeutic potential of CERE-110 (AAV2-NGF): Targeted, stable, and sustained NGF delivery and trophic activity on rodent basal forebrain cholinergic neurons. *Exp Neurol*. 2008;211(2):574–84.

392. Herzog CD, Bishop KM, Brown L, Wilson A, Kordower JH, Bartus RT. Gene transfer provides a practical means for safe, long-term, targeted delivery of biologically active neurotrophic factor proteins for neurodegenerative diseases. *Drug Deliv Transl Res.* 2011;1(5):361–82.
393. Pipeline | Ceregene. [cited 2017 Jun 24]. <https://www.ceregene.com/pipeline/>
394. Rafii MS, Baumann TL, Bakay RAE, Ostrove JM, Siffert J, Fleisher AS, et al. A phase1 study of stereotactic gene delivery of AAV2-NGF for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2014;10(5):571–81.
395. Plosker GL, Gauthier S. Cerebrolysin: a review of its use in dementia. *Drugs Aging.* 2009;26(11):893–915.
396. Bae CY, Cho CY, Cho K, Hoon Oh B, Choi KG, Lee HS, et al. A double-blind, placebo-controlled, multicenter study of Cerebrolysin for Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc.* 2000;48(12):1566–71.
397. Alvarez XA, Cacabelos R, Laredo M, Couceiro V, Sampedro C, Varela M, et al. A 24-week, double-blind, placebo-controlled study of three dosages of Cerebrolysin in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Eur J Neurol.* 2006;13(1):43–54.
398. Alvarez XA, Cacabelos R, Sampedro C, Aleixandre M, Linares C, Granizo E, et al. Efficacy and safety of Cerebrolysin in moderate to moderately severe Alzheimer's disease: results of a randomized, double-blind, controlled trial investigating three dosages of Cerebrolysin. *Eur J Neurol.* 2011;18(1):59–68.
399. Panisset M, Gauthier S, Moessler H, Windisch M, Cerebrolysin Study Group. Cerebrolysin in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with a neurotrophic agent. *J Neural Transm.* 2002;109(7–8):1089–104.
400. Bharadwaj PR, Bates KA, Porter T, Teimouri E, Perry G, Steele JW, et al. Latrepirdine: molecular mechanisms underlying potential therapeutic roles in Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. *Transl Psychiatry.* 2013;3(12):e332.
401. Tariot P, Sabbagh M, Flitman S, Reyes P, Taber L, Seely L. A safety, tolerability and pharmacokinetic study of dimebon in patients with Alzheimer's disease already receiving donepezil. *Alzheimer's Dement.* 2009;5(4):P251.
402. Doody RS, Gavrilova S, Thomas R, Aisen P, Bachurin S, Seely L, et al. Dimebon improves cognition, function, and behavior in mild and moderate Alzheimer's disease: Results by severity of a one-year, double-blind, placebo-controlled study. *Alzheimer's Dement.* 2008;4(4):T771.
403. Doody R, Winblad B, Cummings J, Tariot P, Sano M, Aisen P, et al. Dimebon in Alzheimer's disease: Summary and contrast of three efficacy trials. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(4):P456.
404. Chau S, Herrmann N, Ruthirakuhan MT, Chen JJ, Lanctôt KL. Latrepirdine for Alzheimer's disease. In: Lanctôt KL, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2015. p. CD009524.
405. Merlo S, Spampinato SF, Sortino MA. Estrogen and Alzheimer's disease: Still an attractive topic despite disappointment from early clinical results. *Eur J Pharmacol.* 2017;
406. Setchell KDR, Clerici C, Lephart ED, Cole SJ, Heenan C, Castellani D, et al. S-equol, a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(5):1072–9.
407. Setchell KDR, Clerici C. Equol: History, Chemistry, and Formation. *J Nutr.* 2010;140(7):1355S–1362S.
408. Wilkins HM, Welch P, Koppel S, Bothwell R, Mahnken JD, Burns JM, et al. Trial of S-equol in Alzheimer's disease (SEAD). *Alzheimer's Dement.* 2016;12(7):P827.
409. Webber KM, Perry G, Smith MA, Casadesus G. The Contribution of Luteinizing Hormone to Alzheimer Disease Pathogenesis. *Clin Med Res.* 2007;5(3):177–83.
410. LaPlante BJ, Powers CF, Gault JL, Reynolds BD, Gregory CW. Stabilization of cognitive decline in Alzheimer's disease following treatment with leuprolide acetate. *Alzheimer's Dement.* 2006;2(3):S620–1.
411. Buendia I, Gómez-Rangel V, González-Lafuente L, Parada E, León R, Gameiro I, et al. Neuroprotective mechanism of the novel melatonin derivative Neu-P11 in brain ischemia related models. *Neuropharmacology.* 2015;99:187–95.
412. She M, Hu X, Su Z, Zhang C, Yang S, Ding L, et al. Piromelatine, a novel melatonin receptor agonist, stabilizes metabolic profiles and ameliorates insulin resistance in chronic sleep restricted rats. *Eur J Pharmacol.* 2014;727:60–5.
413. Minkeviciene R, Rheims S, Dobszay MB, Zilberter M, Hartikainen J, Fulop L, et al. Amyloid beta-Induced Neuronal Hyperexcitability Triggers Progressive Epilepsy. *J Neurosci.* 2009;29(11):3453–62.
414. Scott JS, Goldberg FW, Turnbull A V. Medicinal Chemistry of Inhibitors of 11 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 (11 $\beta$ -HSD1). *J Med Chem.* 2014;57(11):4466–86.

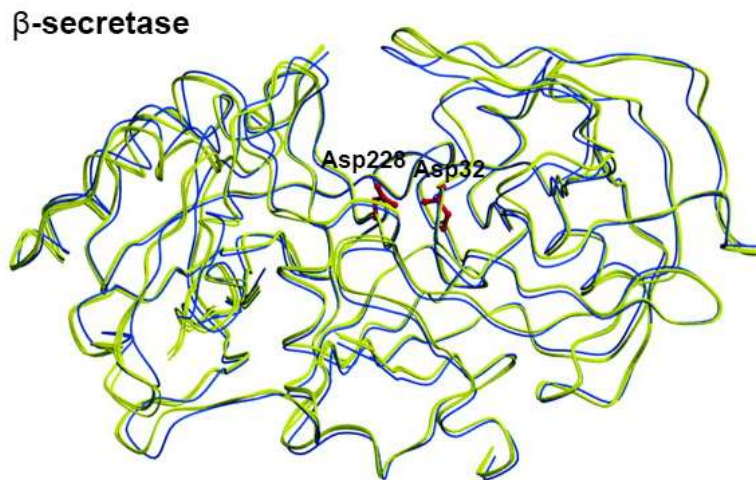
415. Popp J, Wolfgruber S, Heuser I, Peters O, Hüll M, Schröder J, et al. Cerebrospinal fluid cortisol and clinical disease progression in MCI and dementia of Alzheimer's type. *Neurobiol Aging*. 2015;36(2):601–7.
416. Ennis GE, An Y, Resnick SM, Ferrucci L, O'Brien RJ, Moffat SD. Long-term cortisol measures predict Alzheimer disease risk. *Neurology*. 2017;88(4):371–8.
417. Pietrzak RH, Laws SM, Lim YY, Bender SJ, Porter T, Doecke J, et al. Plasma Cortisol, Brain Amyloid- $\beta$ , and Cognitive Decline in Preclinical Alzheimer's Disease: A 6-Year Prospective Cohort Study. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2017;2(1):45–52.
418. Actinogen Clinical Research. [cited 2017 Jun 21]. <http://actinogen.com.au/research/#completed>
419. Discovery & Development of Xanmem | The University of Edinburgh. [cited 2017 Jul 17]. <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.2015-1395>
420. Steiner GZ, Yeung A, Liu J-X, Camfield DA, Blasio FM de, Pipingas A, et al. The effect of Sailuotong (SLT) on neurocognitive and cardiovascular function in healthy adults: a randomised, double-blind, placebo controlled crossover pilot trial. *BMC Complement Altern Med*. 2015;16(1):15.
421. Bouchard J, Villeda SA. Aging and brain rejuvenation as systemic events. *J Neurochem*. 2015;132(1):5–19.
422. Castellano JM, Kirby ED, Wyss-Coray T. Blood-Borne Revitalization of the Aged Brain. *JAMA Neurol*. 2015;72(10):1191.
423. Izzo NJ, Staniszewski A, To L, Fa M, Teich AF, Saeed F, et al. Alzheimer's Therapeutics Targeting Amyloid Beta 1–42 Oligomers I: Abeta 42 Oligomer Binding to Specific Neuronal Receptors Is Displaced by Drug Candidates That Improve Cognitive Deficits. Wu Z-Y, editor. *PLoS One*. 2014;9(11):e111898.
424. Izzo NJ, Xu J, Zeng C, Kirk MJ, Mozzoni K, Silky C, et al. Alzheimer's Therapeutics Targeting Amyloid Beta 1–42 Oligomers II: Sigma-2/PGRMC1 Receptors Mediate Abeta 42 Oligomer Binding and Synaptotoxicity. Wu Z-Y, editor. *PLoS One*. 2014;9(11):e111899.
425. Catalano S, Grundman M, Schneider LS, DeKosky S, Morgan R, Higgin M, et al. A two-part, double-blind, placebo-controlled, phase 1 study of the safety and pharmacokinetics of single and multiple ascending doses of CT1812 in healthy volunteers. *Alzheimer's Dement*. 2016;12(7):P1183–4.
426. Vincent B. Regulation of the  $\alpha$ -secretase ADAM10 at transcriptional, translational and post-translational levels. *Brain Res Bull*. 2016;126(Pt 2):154–69.
427. Desire L, Marcade M, Peillon H, Drouin D, Sol O, Pando M. Clinical trials of EHT 0202, a neuroprotective and procognitive alpha-secretase stimulator for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2009;5(4):P255–6.
428. Acitretin - FDA Approved Drug Products. [cited 2017 May 27]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=BasicSearch.process>
429. Endres K, Fahrenholz F, Lotz J, Hiemke C, Teipel S, Lieb K, et al. Increased CSF APPs- $\alpha$  levels in patients with Alzheimer disease treated with acitretin. *Neurology*. 2014;83(21):1930–5.
430. Belyaev ND, Nalivaeva NN, Makova NZ, Turner AJ. Neprilysin gene expression requires binding of the amyloid precursor protein intracellular domain to its promoter: implications for Alzheimer disease. *EMBO Rep*. 2009;10(1):94–100.
431. Nalivaeva NN, Belyaev ND, Turner AJ. New Insights into Epigenetic and Pharmacological Regulation of Amyloid-Degrading Enzymes. *Neurochem Res*. 2016;41(3):620–30.
432. Salminen A, Ojala J, Kaarniranta K, Hiltunen M, Soininen H. Hsp90 regulates tau pathology through co-chaperone complexes in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 2011;93(1):99–110.
433. Blair LJ, Sabbagh JJ, Dickey CA. Targeting Hsp90 and its co-chaperones to treat Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets*. 2014;18(10):1219–32.
434. Ou J-R, Tan M-S, Xie A-M, Yu J-T, Tan L. Heat Shock Protein 90 in Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2014;2014:1–7.
435. Luo W, Sun W, Taldone T, Rodina A, Chiosis G. Heat shock protein 90 in neurodegenerative diseases. *Mol Neurodegener*. 2010;5:24.
436. Lu R-C, Tan M-S, Wang H, Xie A-M, Yu J-T, Tan L. Heat Shock Protein 70 in Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2014;2014:1–8.
437. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A, Ojala J, Haapasalo A, Soininen H, et al. Impaired autophagy and APP processing in Alzheimer's disease: The potential role of Beclin 1 interactome. *Prog Neurobiol*. 2013;106–107:33–54.

438. Eldar-Finkelman H, Martinez A. GSK-3 Inhibitors: Preclinical and Clinical Focus on CNS. *Front Mol Neurosci.* 2011;4:32.
439. Shah K, Lahiri DK. A Tale of the Good and Bad: Remodeling of the Microtubule Network in the Brain by Cdk5. *Mol Neurobiol.* 2017;54(3):2255–68.
440. Tsai S-YA, Pokrass MJ, Klauer NR, Nohara H, Su T-P. Sigma-1 receptor regulates Tau phosphorylation and axon extension by shaping p35 turnover via myristic acid. *Proc Natl Acad Sci.* 2015;112(21):6742–7.
441. Agrawal NR, Ganapathi R, Mekhail T. Tubulin interacting agents: Novel taxanes and epothilones. *Curr Oncol Rep.* 2003;5(2):89–98.
442. McGuinness B, Craig D, Bullock R, Malouf R, Passmore P. Statins for the treatment of dementia. In: McGuinness B, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2014.
443. McFarland K, Price DL, Gorman SA, Johnson RW, Bonhaus DW. Alzheimer's disease psychosis: Potential therapeutic benefit of pimavanserin, a 5-HT<sub>2A</sub> inverse agonist. *Alzheimer's Dement.* 2010;6(4):S548.
444. Corbett A, Smith J, Creese B, Ballard C. Treatment of Behavioral and Psychological Symptoms of Alzheimer's Disease. *Curr Treat Options Neurol.* 2012;14(2):113–25.
445. Prati F, Cavalli A, Bolognesi M. Navigating the Chemical Space of Multitarget-Directed Ligands: From Hybrids to Fragments in Alzheimer's Disease. *Molecules.* 2016;21(4):466.
446. Wang Y, Wang H, Chen H. AChE Inhibition-based Multi-target-directed Ligands, a Novel Pharmacological Approach for the Symptomatic and Disease-modifying Therapy of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol.* 2016;14(4):364–75.
447. Singh M, Kaur M, Chadha N, Silakari O. Hybrids: a new paradigm to treat Alzheimer's disease. *Mol Divers.* 2016;20(1):271–97.
448. Ismaili L, Refouvelet B, Bencheikroun M, Brogi S, Brindisi M, Gemma S, et al. Multitarget compounds bearing tacrine- and donepezil-like structural and functional motifs for the potential treatment of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol.* 2016;
449. Rosini M, Simoni E, Minarini A, Melchiorre C. Multi-target Design Strategies in the Context of Alzheimer's Disease: Acetylcholinesterase Inhibition and NMDA Receptor Antagonism as the Driving Forces. *Neurochem Res.* 2014;39(10):1914–23.
450. Unzeta M, Esteban G, Bolea I, Fogel WA, Ramsay RR, Youdim MBH, et al. Multi-Target Directed Donepezil-Like Ligands for Alzheimer's Disease. *Front Neurosci.* 2016;10:205.
451. Guzior N, Wieckowska A, Panek D, Malawska B. Recent development of multifunctional agents as potential drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Med Chem.* 2015;22(3):373–404.
452. Wisniewski T, Drummond E. Developing therapeutic vaccines against Alzheimer's disease. *Expert Rev Vaccines.* 2015;15(3):1–15.
453. Goñi F, Herline K, Peyser D, Wong K, Ji Y, Sun Y, et al. Immunomodulation targeting of both A $\beta$  and tau pathological conformers ameliorates Alzheimer's disease pathology in TgSwDI and 3xTg mouse models. *J Neuroinflammation.* 2013;10(1):914.
454. Wisniewski T, Goñi F, Trojanowski JQ, Mahan TE, Ma S, Maloney SE, et al. Immunotherapeutic Approaches for Alzheimer's Disease. *Neuron.* 2015;85(6):1162–76.
455. Davtyan H, Zagorski K, Rajapaksha H, Hovakimyan A, Davtyan A, Petrushina I, et al. Alzheimer's disease AdvaxCpG- adjuvanted MultiTEP-based dual and single vaccines induce high-titer antibodies against various forms of tau and A $\beta$  pathological molecules. *Sci Rep.* 2016;6(1):28912.
456. Valera E, Spencer B, Masliah E. Immunotherapeutic Approaches Targeting Amyloid- $\beta$ ,  $\alpha$ -Synuclein, and Tau for the Treatment of Neurodegenerative Disorders. *Neurotherapeutics.* 2016;13(1):179–89.
457. Plano de Ação Global para as Demências 2017- 2025 | Associação Alzheimer Portugal. [cited 2017 Jul 16]. [http://alzheimerportugal.org/pt/news\\_text-77-19-775-plano-de-acao-global-para-as-demencias-2017-2025](http://alzheimerportugal.org/pt/news_text-77-19-775-plano-de-acao-global-para-as-demencias-2017-2025)
458. Shimizu H, Tosaki A, Kaneko K, Hisano T, Sakurai T, Nukina N. Crystal Structure of an Active Form of BACE1, an Enzyme Responsible for Amyloid Protein Production. *Mol Cell Biol.* 2008;28(11):3663–71.
459. De Strooper B, Vassar R, Golde T. The secretases: enzymes with therapeutic potential in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010;6(2):99–107.
460. Stewart KL, Radford SE. Amyloid plaques beyond A $\beta$ : a survey of the diverse modulators of amyloid aggregation. *Biophys Rev.* 2017;
461. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2011;1(1):a006189.

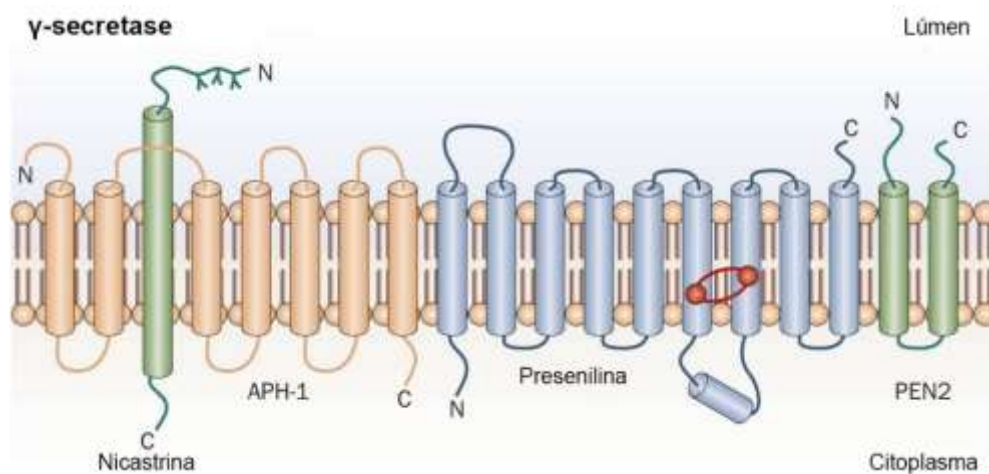
462. Bohrmann B, Baumann K, Benz J, Gerber F, Huber W, Knöflach F, et al. Gantenerumab: A Novel Human Anti-A $\beta$  Antibody Demonstrates Sustained Cerebral Amyloid- $\beta$  Binding and Elicits Cell-Mediated Removal of Human Amyloid- $\beta$ . *J Alzheimer's Dis.* 2012;28(1):49–69.
463. Bolognesi ML, Matera R, Minarini A, Rosini M, Melchiorre C. Alzheimer's disease: new approaches to drug discovery. *Curr Opin Chem Biol.* 2009;13(3):303–8.

## Anexos

### A1. Enzimas envolvidas na via amiloidogénica do processamento da APP: $\beta$ -secretase e $\gamma$ -secretase



A  $\beta$ -secretase é uma proteína transmembranar, com atividade aumentada para pH ácido (estrutura da enzima inativa, a pH7, encontra-se representada a azul e a ativa, a pH 4-5, a verde), responsável pela clivagem da APP. É uma protease aspártica. Os resíduos catalíticos Asp32 e Asp226 (a vermelho na imagem) e vários resíduos hidrofóbicos que formam o pocket S1 contribuem para a sua ligação ao substrato. Adaptado de Shimizu et al, 2008. (458)

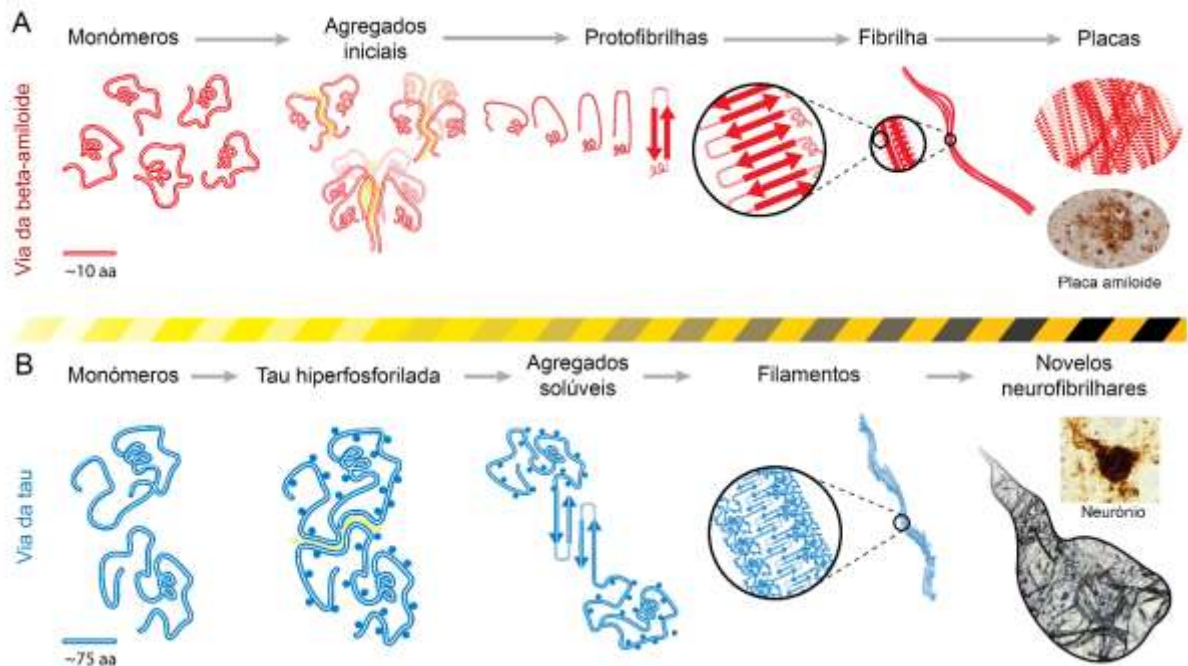


A  $\gamma$ -secretase é um complexo intramembranar composto por cinco proteínas: presenilina 1 (PSEN1), presenilina 2 (PSEN2), nicastrina, *anterior pharynx-defective 1* (APH-1), e o potenciador de presenilina 2 (PEN2). É responsável pela clivagem da APP na região



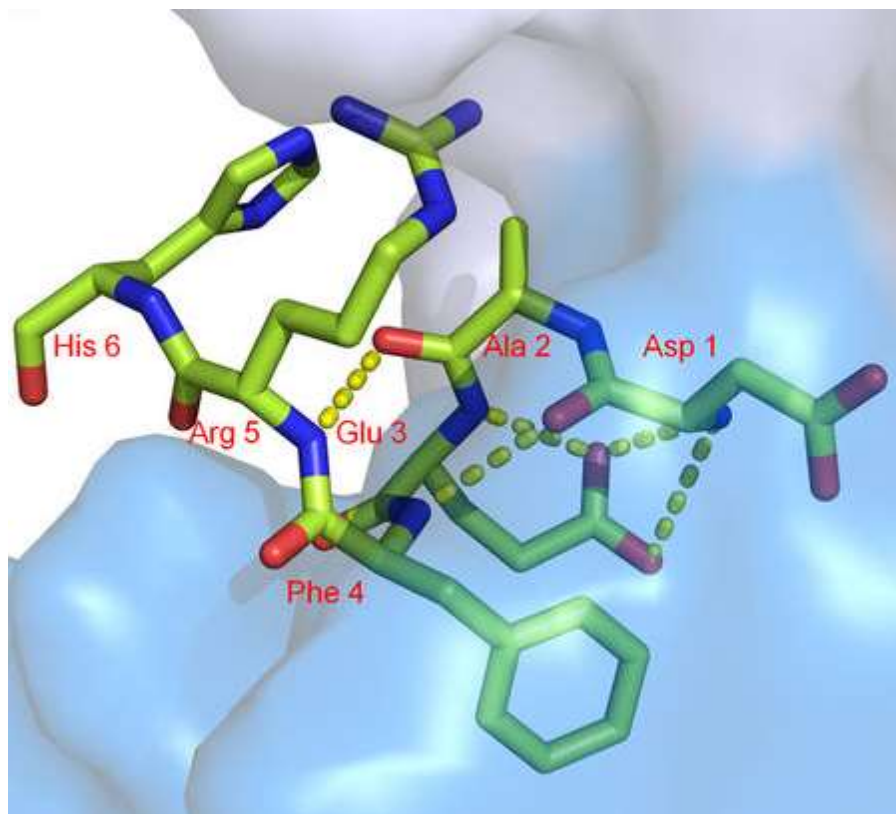
C-terminal, libertando o domínio citoplasmático da APP. Essa clivagem não é muito específica, dando origem a diferentes regiões C-terminais, e consequentemente a monómeros de  $\beta$ A com diferentes tamanhos. Encontra-se também envolvida no processamento de outros substratos. O centro ativo do complexo localiza-se num bolso hidrofílico formado pelas duas presenilinas, apresentando este heterodímero atividade de protease aspártica. (11,98) A NCSTN atua como recetor do substrato, a APh-1 como estabilizador, e o PEN-2 como potenciador/regulador da atividade. (11) Figura adaptada de Strooper et al, 2010. (459)

## A2. Estádios da agregação da $\beta$ A e da tau hiperfosforilada



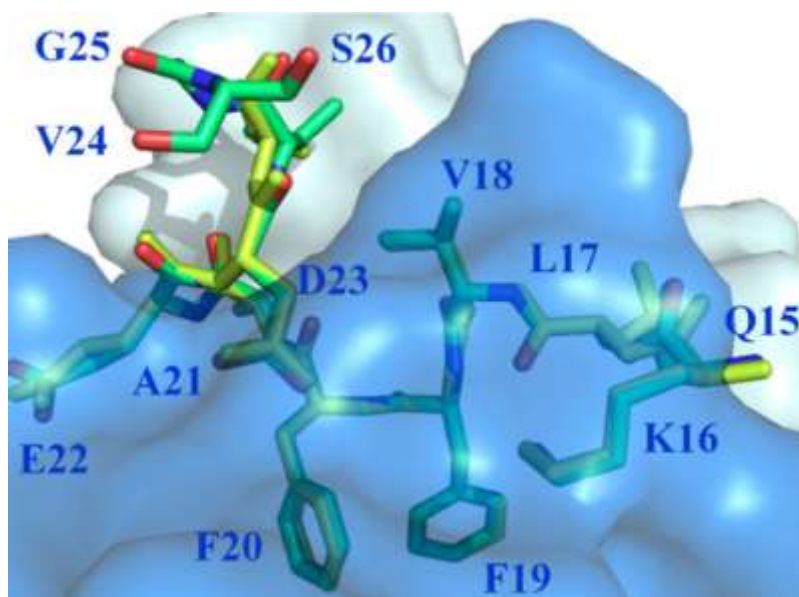
A) A agregação de monómeros de  $\beta$ A ocorre, presumivelmente, através de interações hidrofóbicas e/ou eletrostáticas e origina oligómeros. Após formação do núcleo oligomérico, a agregação ocorre rapidamente e de forma mais estruturada. Formam-se assim fibrilhas insolúveis com uma estrutura de folha- $\beta$  cruzada. Estas associam-se em placas densas altamente estáveis termodinamicamente. Estas placas são extracelulares. (460) B) A hiperfosforilação dos monómeros promove a sua agregação em agregados solúveis, que por sua vez formam filamentos helicoidais emparelhados. Os agregados neurofibrilares são o último passo desta agregação. Estes processos são intracelulares uma vez que a tau é uma proteína intracelular. (461) Imagem adaptada de Graham et al, 2017. (73)

### A3. Interações do bapineuzumab com a $\beta$ A



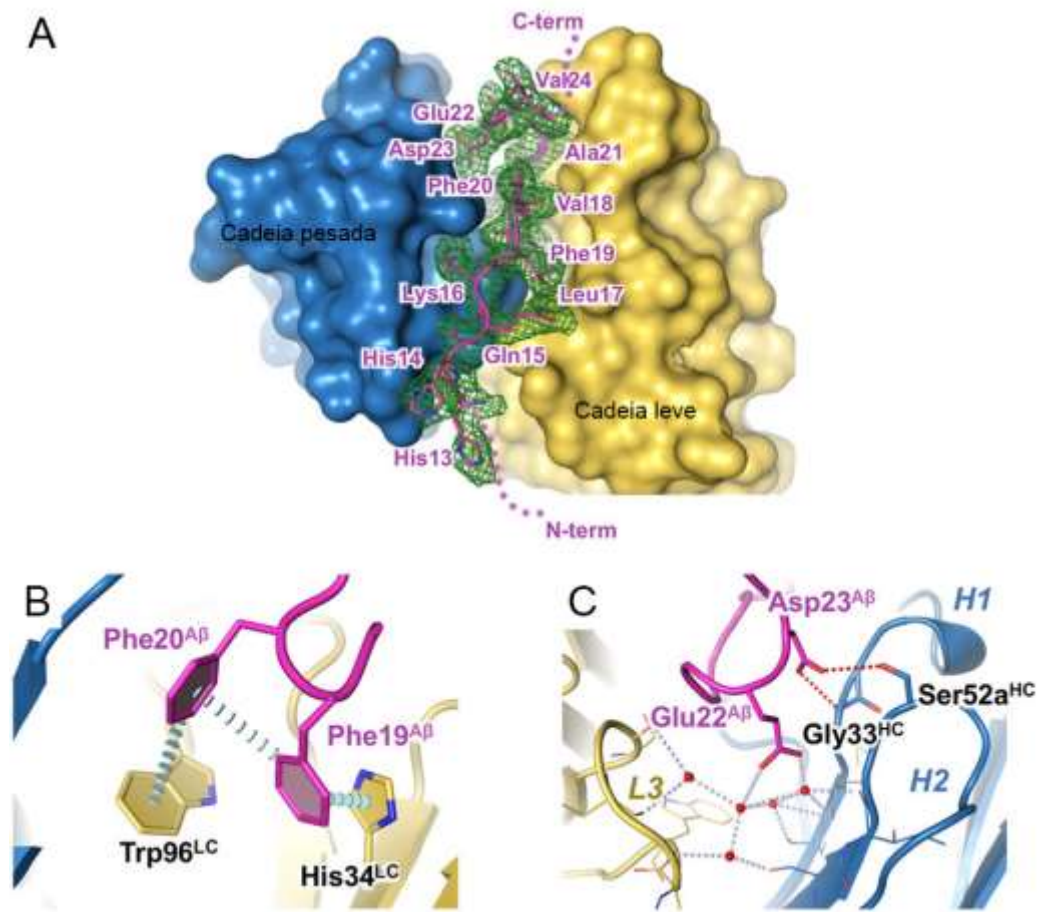
O epítipo  $\beta A_{1-5}$  (representado a verde), quando interage com o bapineuzumab (cadeia leve do Ac a azul claro e a cadeia pesada do Ac a azul escuro), apresenta-se sob forma helicoidal estabilizada por cinco ligações de hidrogénio intramoleculares (representadas a tracejado). Três dessas ligações envolvem a Glu3: uma entre a amida do *backbone* deste resíduo com um carboxil da sua cadeia lateral e duas entre os carboxil da mesma cadeia e a amina N-terminal do Asp1. As restantes são estabelecidas entre a amida da Phe4 e o carbonil da cadeia principal do Asp1, e entre a amida da cadeia principal da Arg5 e o carbonil da Ala2. Retirado de Miles et al, 2013. (66)

#### A4. Interações do solanezumab com a $\beta$ A



As principais interações do solanezumab com o epítipo  $\beta$ A<sub>16-26</sub> estabelecem-se com os resíduos Phe (interações hidrofóbicas) e os resíduos Lys e Asp (pontes de hidrogénio) do monómero. A zona azul clara representa a cadeia leve do Ac, e a zona azul escura a cadeia pesada. O péptido está representado a verde e lima, encontrando-se os resíduos do epítipo (KLVFFAEDVGS) especificados. Os resíduos Phe estabelecem ligações hidrofóbicas com os resíduos Phe36(L1), His34(L1), Ser91(L3), Trp96(L3), Ser33(H1), Ser94(H3), Gly95(H3) e Asp96(H3) da CDR do Ac; o Lys16 estabelece uma ligação de hidrogénio com Asp96(H3); e o Asp23 estabelece também uma ligação de hidrogénio com Ser33(H1). Retirado de Crespi et al, 2015. (74)

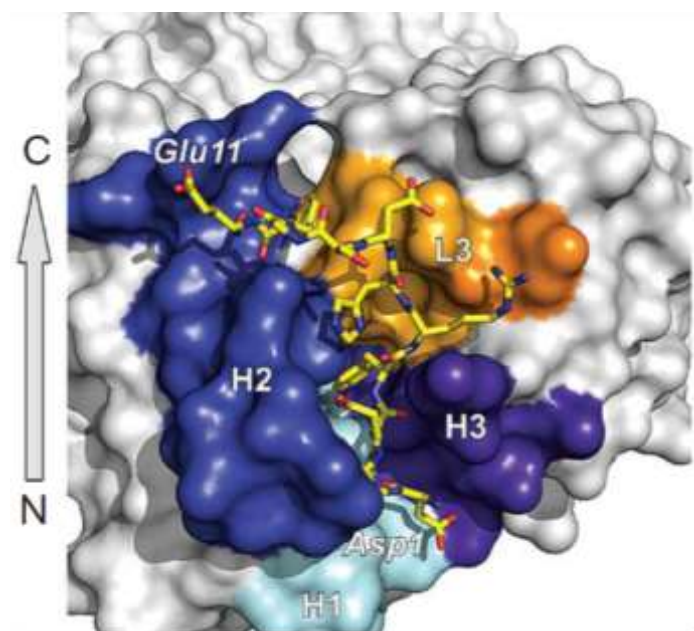
## A5. Interações do crenezumab com a $\beta$ A



A) A cadeia pesada do Ac encontra-se a azul, a leve a amarelo, e o péptido  $\beta$ A a fúcsia com as regiões terminais representadas por pontos. B) As CDRs do Ac formam uma fenda onde se liga o epítipo  $\beta$ A<sub>13-24</sub>: os resíduos Phe19 e Phe20 formam interações hidrofóbicas com os resíduos Trp96 e His34 da cadeia leve, ancorando o péptido ao fundo da fenda e proporcionando uma elevada afinidade de ligação. C) A Glu22 e o Asp23 estabelecem ligações de hidrogénio com Ser52 e Gly33 da cadeia pesada. Adaptado de Ultsch et al, 2016. (68)

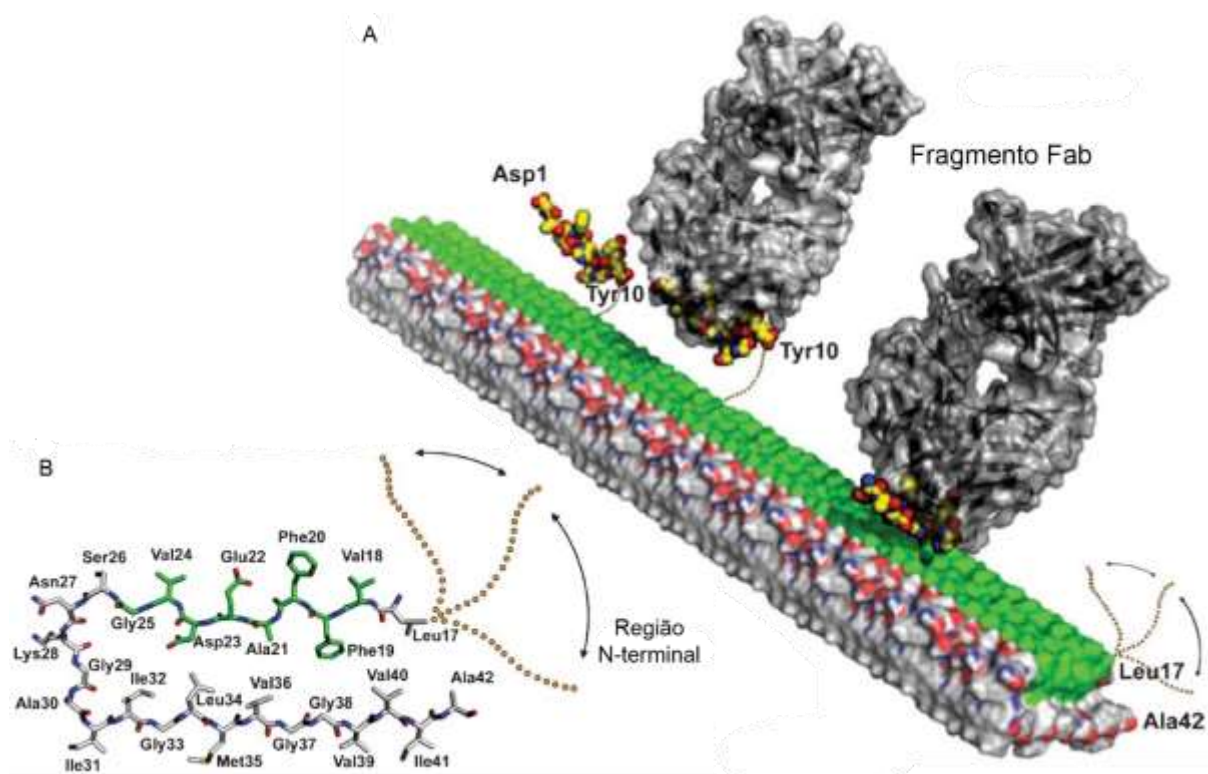
Após a ligação, o Ac previne a agregação e promove a desagregação das formas agregadas, através de dois mecanismos: ligação e consequente bloqueio de parte do núcleo hidrofóbico, nomeadamente dos resíduos Leu17-Ala21, responsável pela oligomerização e quebra de ponte iónica entre o Asp23 e Lys28, essencial à estabilização da conformação em U necessária à oligomerização. (68,81)

## A6. Interações do gantenerumab com a $\beta$ A



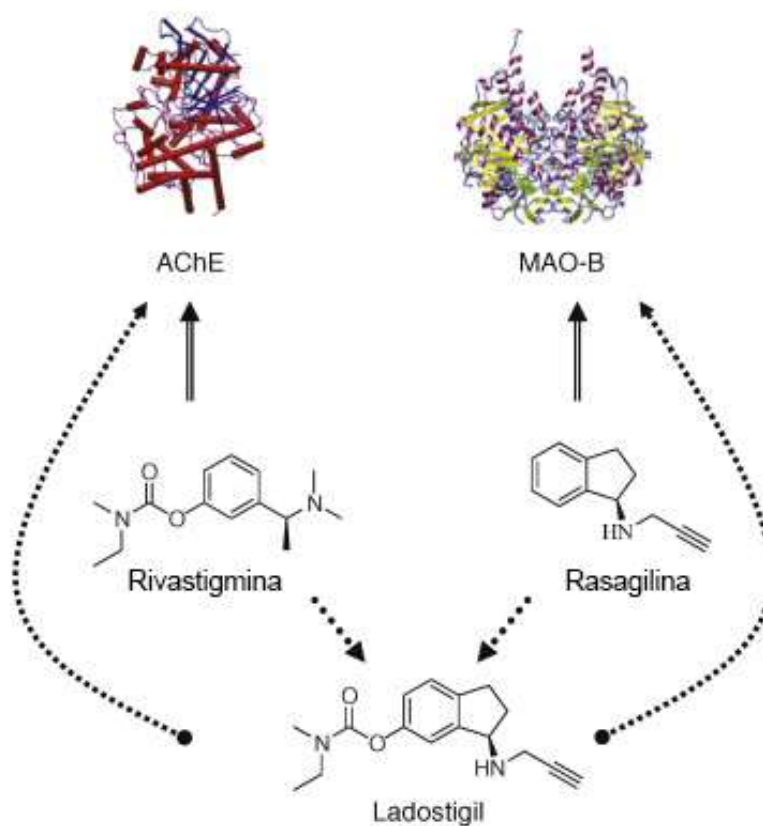
O gantenerumab liga-se tanto à região central, A $\beta$ <sub>19-26</sub>, como à região N-terminal, A $\beta$ <sub>1-11</sub>. Na sua ligação ao péptido  $\beta$ A<sub>1-11</sub> (Asp-Ala-Glu-Phe-Arg-His-Asp-Ser-Gly-Tyr-Glu), todos os resíduos deste, à exceção da Ser e Gly, se encontram envolvidos na ligação ao Ac: os primeiros 4 resíduos interagem com a cadeia pesada (H1, H2, H3) enquanto os restantes interagem tanto com esta como com a leve; a Phe4 encontra-se numa bolsa hidrofóbica formada pelos resíduos Ile92L, M95L, Ile97L, Ala33H, Met34H, Ser35H, Ala50H, Val110H e Phe113H do Ac. Retirado de Bohrmann et al, 2012. (462)





A imagem acima representa a interação do gantenerumab com as fibrilhas  $\beta$ A. A) A região N-terminal flexível é o primeiro ponto de contacto, seguida da porção central que reforça a ligação. A ligação sequencial está representada da esquerda para a direita: primeiro ocorre a ligação à região N-terminal e, posteriormente, a ligação ao epítipo central  $A\beta_{19-26}$  (Val- Phe-Phe-Ala-Glu-Asp-Val-Gly) que se encontra a verde na imagem. B) Esquema de uma secção transversal perpendicular ao eixo da fibrilha com os resíduos 17 a 42 evidenciados. A região N-terminal flexível encontra-se ilustrada com pontos. Retirado de Bohrmann et al, 2012. (462)

## A7. Racional do desenvolvimento do ladostigil



O ladostigil foi desenhado com base na estrutura da rivastigmina, um IACHe, e da rasagilina, um inibidor da MAO-B, apresentando estruturas características de ambos. Tem atividade inibidora da colinesterase e butirilesterase e da MAO-A e B cerebral. Adaptado de Bolognesi et al, 2009. (463)